Chap. I. Introduction à la biologie cellulaire

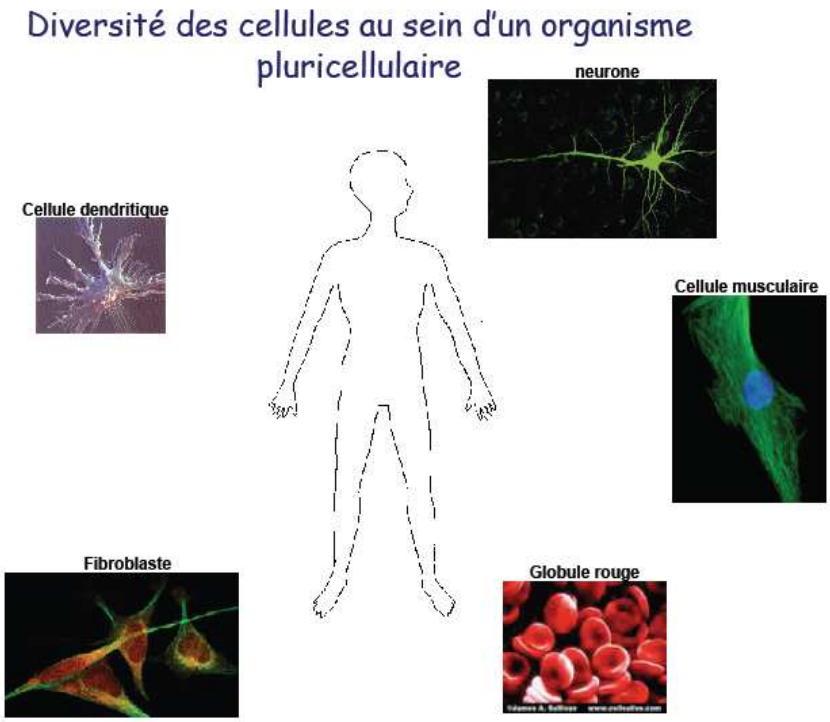
Introduction
Ce chapitre à pour objectif d'introduire l'étudiant au monde vivant et d'apprendre des définition et des principes de la vie et de l'historique de la théorie cellulaire.

Définitions

Qu'est ce que le vivant?
Un être vivant possède les caractéristiques suivantes:
- Complexité: une grande diversité de ses constituants moléculaires;
- Accroissement et renouvellement de ses constituants par le **métabolisme** (synthèse et dégradation), dépense d'énergie pour le maintien d'un **état stationnaire**.
- Capacité de **réaction** et **excitabilité**
- Capable de **Reproduction**

Le terme **Biologie** provient de **Bios**=**Vie** et de **logos**=**science** ou **doctrine**.
Donc **Biologie = Science de la vie**
Cellule = Cella (Latin) = Espace vide
Biologie cellulaire = Étude de la structure et du fonctionnement cellulaire

Comment définir la cellule?
La cellule (du latin **cellula**, petite chambre) est l'**unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant**.
Chaque cellule est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière **autonome** mais **coordonnée** avec les autres.
Les cellules de même type sont réunies en **tissus**, eux même réunis en **organes**.
La cellule est donc une enceinte séparée de l'extérieur par une **membrane** capable de filtrer sélectivement les échanges.

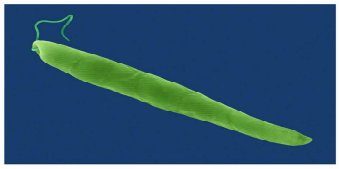


Qu’est ce que la biologie cellulaire ?

La **biologie cellulaire** étudie les cellules et leurs organites, les processus vitaux qui s'y déroulent ainsi que les mécanismes permettant leur survie.
La **biochimie** est la discipline scientifique qui étudie les réactions chimiques ayant lieu au sein des cellules.
La **biologie moléculaire** est une discipline dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire.
Le terme « biologie moléculaire » désigne également l'ensemble des techniques de manipulations d'acides nucléiques (ADN, ARN).

Historique de la théorie cellulaire

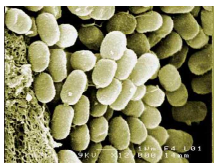
La théorie cellulaire s'énonce de la façon suivante:
"tous les êtres vivants (animaux, plantes et protozoaires) sont constitués de cellules et des produits de l'activité de ces cellules".
Les anciens philosophes et naturalistes, tel que Aristote, conclurent que:
"Les animaux et les plantes quelque soit la complexité de leur organisation, ne sont constitués que d'un petit nombre d'éléments qui se répètent dans chacun d'eux".



REGNE DES PROTZOAIRES

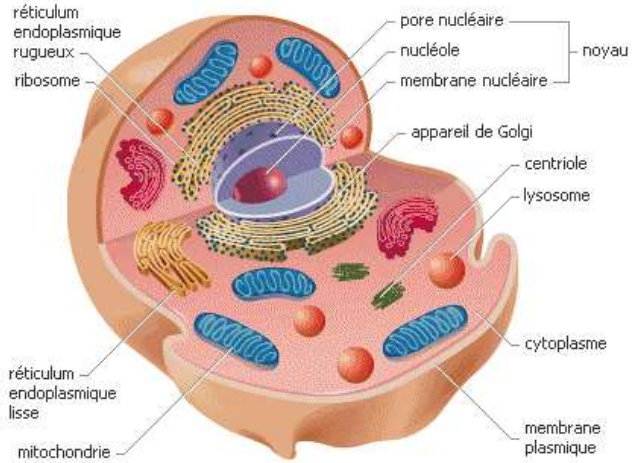
REGNE VEGETAL

REGNE ANIMAL



Microorganismes (Bactéries)

Virus



Celulle (Unité structurale et fonctionnelle du vivant)

Petite Histoire de la Biologie Cellulaire

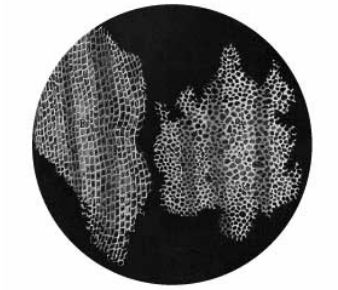
1665 : **Robert Hooke** découvre des **cellules dans du liège** en utilisant les premiers microscopes.

1677 : **Antoine van Leeuwenhoek**, connu pour ses améliorations du microscope, observe le poivre pour vérifier s'il porte des aiguilles minuscules. Cela l'amène à la découverte accidentelle d'**animalcules**, connus aujourd'hui sous le nom de **protozoaires**.

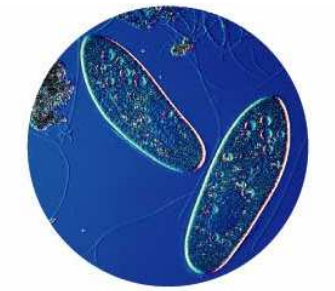
1839 : **Théodore Schwann** découvre que **les plantes et les animaux sont tous faits de cellules**, concluant que la cellule est l'unité commune de structure et de développement, ce qui fonda la **théorie cellulaire**. Il donna son nom aux cellules de Schwann.

1858: Louis Pasteur réfute la génération spontanée, croyance selon laquelle des formes de vie peuvent apparaître spontanément.

1858 : **Rudolph Virchow** affirme que les cellules naissent du résultat de la division cellulaire (« omnis cellula ex cellula »)



Dessin de Robert Hooke (1665)



Anton van Leeuwenhoek:
Premier a observer une cellule "animalcules"

<u>Invention des lentilles grossissantes</u>

- **1665: Les cellules ont été décrites et identifiées pour la première fois par Hooke: "ce tissu est formé de cavités auxquelles il donna le nom de <u>cellules ».</u>**
- **1670:"Les tissus des plantes sont composés de cellules" (Malpighi).**
- **1824: la structure cellulaire de l'être vivant est générale (Dutrochet).**
- **1831: Brown arriva à la conclusion que le noyau est un constituant fondamental et constant de toute la cellule.**

<u>Amélioration et la découverte du microscope optique et des colorants</u>

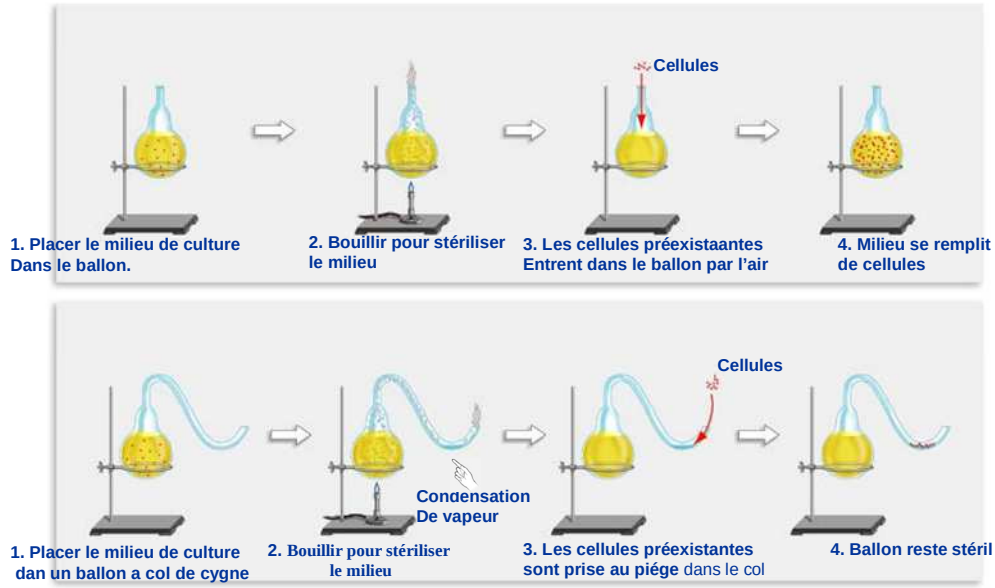
Des organites et des phénomènes cellulaires ont été mis en évidence:
- 1870-1880: découverte de la mitose.
- 1890-1900 découverte de la Mitochondrie.
- 1898-1900 de l'Appareil de Golgi.

- 1940: le microscope électronique a été utilisé (le grossissement peut atteindre 100,000 à 1, 000,000 fois). Les phénomènes et les structures dévoilés ont entraînés leur étude par d'autres domaines.

-1900 : Description des principales structures composant la cellule et préparation des premiers extraits acellulaires de levure par Büchner
-1920 : Développement des techniques de cytochimie / coloration
-1940 : Utilisation des isotopes
-1950 : Mise au point des techniques de fractionnement cellulaire et de purification des organites par Claude et Brachet
-1960 : Immunolocalisation;
1970; Hybridation *in vitro*;
1987 : Utilisation de la microscopie confocale (inventée par Minski en 1961)
1980 à nos jours : Révolution biotechnologique avec l'avènement de la **biologie moléculaire** (étude des gènes et de leur régulation) et des outils de **transgenèse** (introduction de gènes étrangers dans une cellule végétale ou animale)
Remarque 1: Sciences biologiques se définissent par une approche « **hypothético-déductive** » => poser des hypothèses qui sont vérifiées par l'expérimentation => déduction par interprétation des résultats / raisonnement (philosophie des sciences) => Plus de vérité sur le monde
Remarque 2: Réductionnisme, concept rattaché à l'étude fragmentaire des systèmes biologiques => faciliter l'étude et la compréhension de certains processus (cas de l'ADN décrit par Watson et Crick en 1953 => Bases chimiques de l'hérédité / cellule)
Remarque 3: Activité scientifique dans le domaine de la biologie : **450 000 articles** dans des revues spécialisés / an, à l'échelle mondiale

La théorie de la Cellule
Principe de la théorie cellulaire:

- Hypothèse de Virchow: Chaque cellule provient d'une cellule préexistante (1858).
- Hypothèse Alternative: Génération spontanée.
- Les expériences de Pasteur ont été menées pour tester les deux hypothèses.



Expérience de la vérification de la génération spontanée (Luis Pasteur. 1858)

Principes de la théorie cellulaire
1. Tous les organismes vivants sont formés de cellules qui sont l'unité de base.
2. La cellule est l'unité fonctionnelle.
3. La cellule est le siège des réactions chimiques, biochimiques, métaboliques et reproductifs nécessaires aux êtres vivants.
4. Chaque cellule provient d'une cellule préexistante et la théorie de génération spontanée fut alors rejetée.
5. La cellule contient le matériel génétique (ADN) et la démonstration expérimentale de la théorie chromosomique de l'hérédité fût apporté par Morgan, Stutevant et Bridges.
Ils assignèrent aux gènes ou unités héréditaires, des emplacements (loci) définis dans les chromosomes, qui vont assurer la continuité d'une génération à l'autre.

La cellule: base de l'unité et de la diversité du monde vivant
Théorie cellulaire (1838, **Schleidens & Schwann)**
et théorie de l'évolution (Darwin)

- Toute forme vivante est faite de cellules
- Toute cellule dérive d'une cellule pré-existante

Corollaire: fin de la génération spontanée et du créationnisme.

Unité et diversité structurale
C'est un volume de **cytoplasme** entouré par une **membrane cytoplasmique** et contenant un **noyau** et différentes structures. Mais … *différenciation*

Unité et diversité fonctionnelle
C'est la plus petite organisation moléculaire qui possède les propriétés du vivant: **contrôle des échanges**, **métabolisme**, **croissance et multiplication**. Mais … *différenciation*

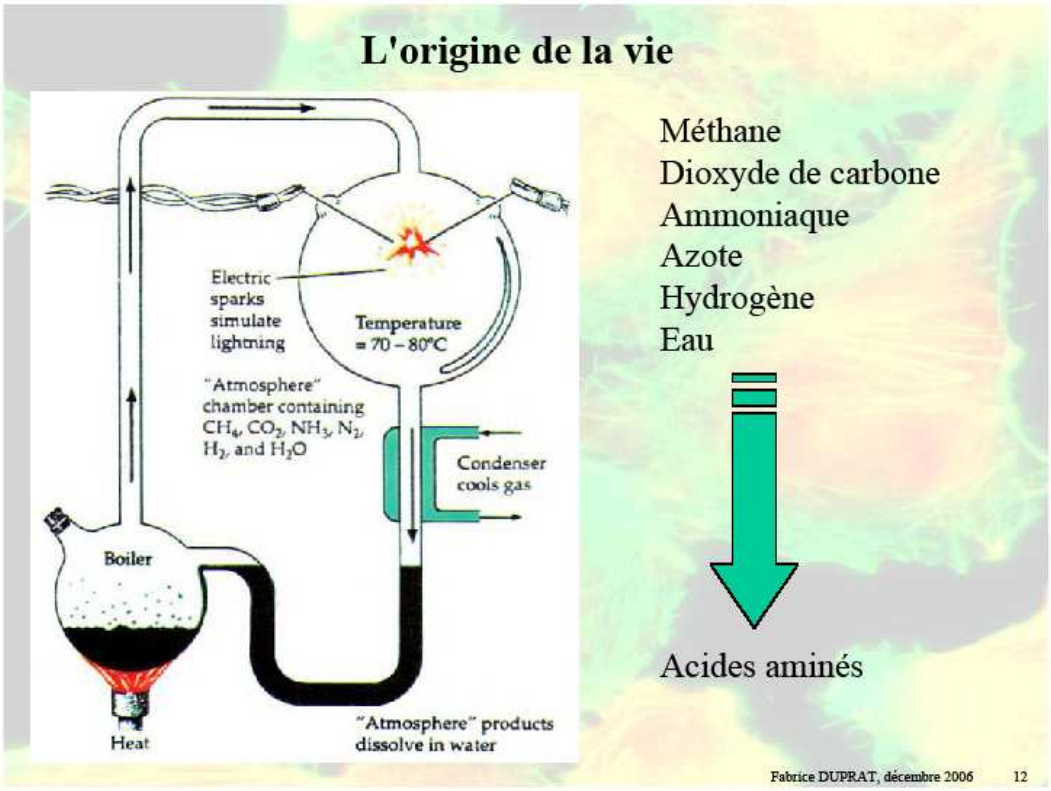
La biologie cellulaire étudie l'organisation et le fonctionnement de la cellule.

La cellule est considérée comme l'unité morphologique et fonctionnelle au sein de l'organisme, c'est aussi l'unité la plus petite capable d'une vie autonome.
La biologie cellulaire aborde les problèmes de la cellule à tous les niveaux d'organisation depuis les structures moléculaires.

Origines de la vie cellulaire
On suppose que la vie existait dès -3,8Ga, âge des plus anciennes traces de molécules organiques, et les premières cellules ayant laissé des vestiges fossiles sont datées de -3,45 Ga (cyanobactéries découvertes en Australie occidentale).

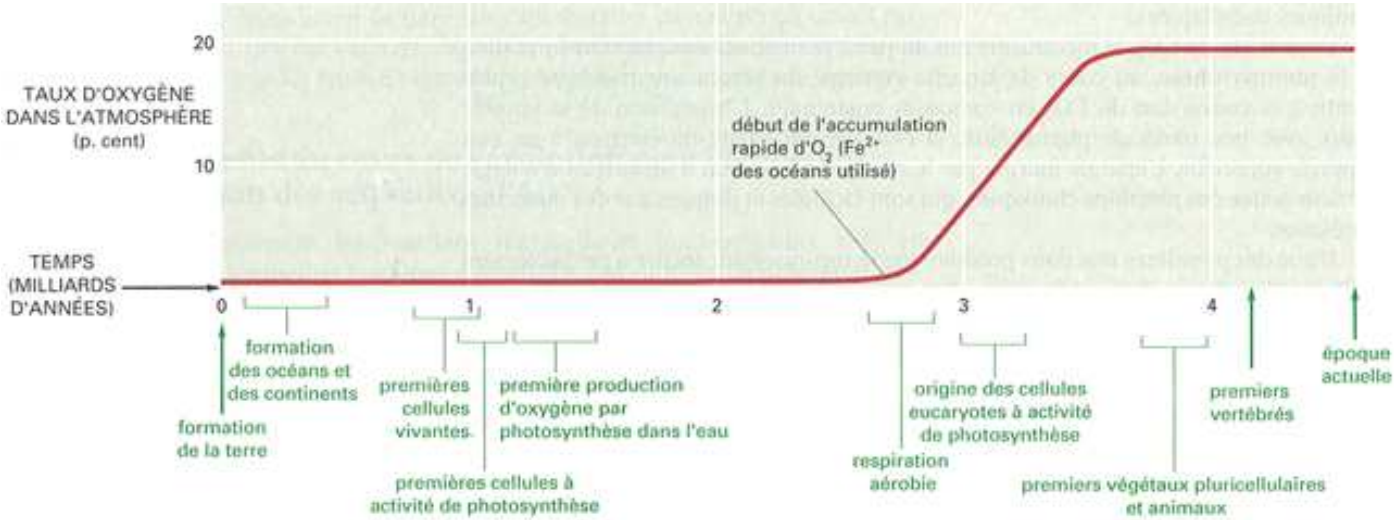
(a)

Précipités de calcite dus au métabolisme bactérien



Expérience de synthèse chimique des acides aminés (Vérification de la théorie d'apparition de vie sur terre.

Principales étapes de l'évolution de la vie sur Terre



Ces étapes ont été établies grâce à l'utilisation des résultats de plusieurs études (géologique, biologique, chimique…) sur des échantillons prélevés au niveau de plusieurs sites sur le globe terrestre.

El Rhaffari L.

Chap. II. Techniques d'études de la cellule

Diverses techniques ont été utilisées pour étudier la cellule :

- Etudes morphologiques (Techniques Microscopiques)
- Etudes physico-chimiques (Techniques de fractionnement des constituants cellulaires dont Centrifugation, etc...).

L'évolution de ces techniques d'étude a permis de mieux comprendre la biologie cellulaire.

I- Techniques microscopiques

- La majorité des cellules sont petites et transparentes à la lumière visible et ne peuvent être décelé par l'œil humain: le pouvoir séparateur de l'œil est de l'ordre de 200 µm (à 25 cm, l'œil distingue 2 points voisins de 0,2 mm).
- La découverte des microscopes et la mise au point de préparation du matériel augmenter le pouvoir séparateur de l'œil, et éliminer la transparence du matériel.

1. Préparation de l'échantillon pour l'examen

a. Étude des cellules encore vivantes:

* La microchirurgie (examen *vital)* : introduction de microinstruments (microsondes, microaiguilles) informations sur les propriétés physico-chimiques de la cellule.
* La culture des cellules animales et végétales après leur isolement (examen *supravital*) : obtention d'un clone (Population de cellules provenant d'une seule cellule parentale).
* Les colorants vitaux des structures de la cellule (Ex. Réaction à l'acide périodique spécifique des sucres; réaction de Feulgen pour l'ADN).

b. Étude des cellules préalablement tuées:

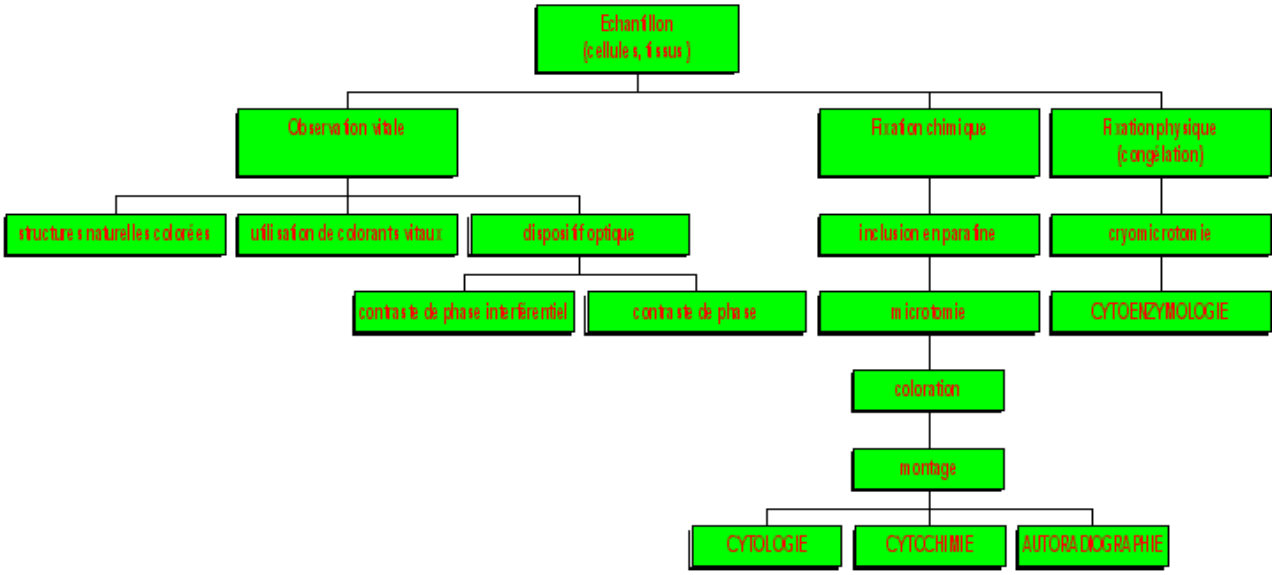
Agents chimiques ou physiques (congélation) qui "fixent" la cellule Une analyse morphologique complète, on utilise:

* Un fixateur chimique: colorant qui cause la mort de la cellule, mais conserve la structure et la composition de celle-ci. Ex. Lugol (acide) pour noyaux et chromosomes ;et pour enzymes: l'acétone et la formaldéhyde,..
* La cryodessiccation: congélation rapide l'échantillon dans un bain d'azote liquide (-160° à -190°C), puis déshydratation ou dessiccation sous vide à une T° de -30° à -40°C morphologie cellulaire conservée et même maintien de la vie (spermatozoïde).

2 autres étapes sont nécessaires pour analyse au microscope:

* L'inclusion: dans une substance solide (paraffine ou celloïdine). Le tissu fixé est d'abord déshydraté (bain d'alcool), dans un solvant intermédiaire (xylème ou toluène pour la paraffine, éthanol éther pour la celloïdine). Pour le microscope électronique, l'inclusion se fait dans des résines très dures (les méthacrylates et les résines époxy).

* Préparation des coupes minces: Des tranches plus au moins fines sont réalisées à l'aide d'un **microtome.** Épaisseur exigée 2 à 5 µm pour la microscopie photonique et 50 à 80 nm pour la microscope électronique.



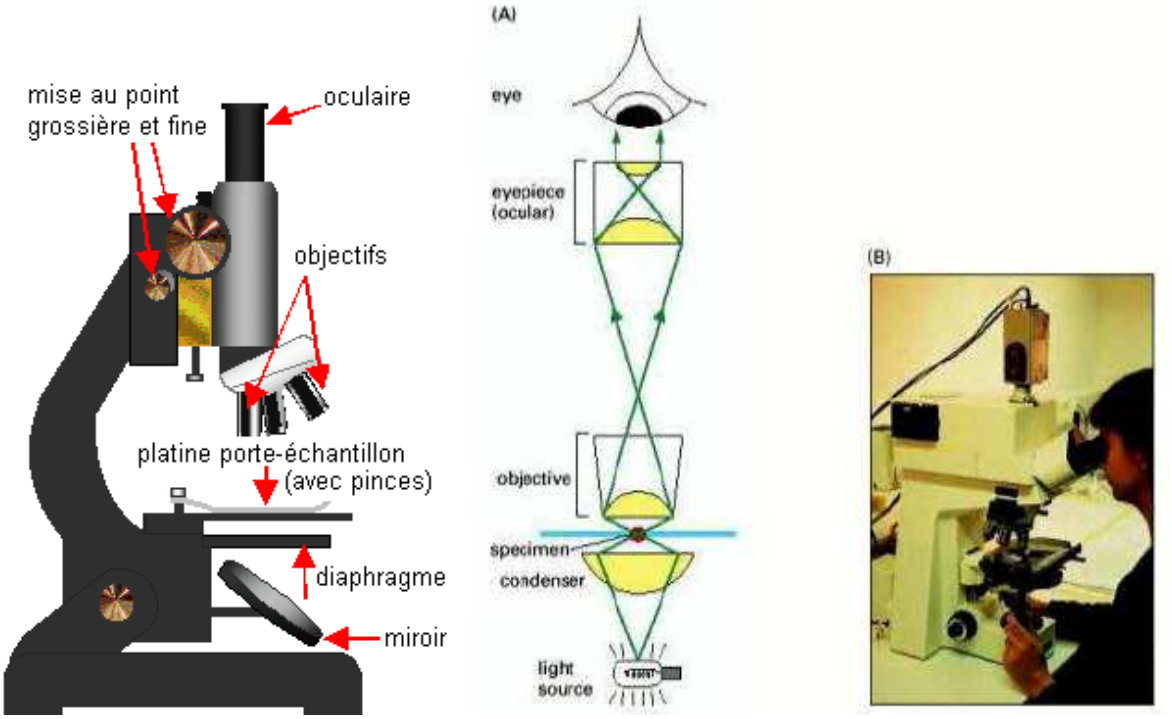
Etapes de préparation des échantillons en microscopie optique

2. Microscope optique

Définition : outil permettant l'examen d'objets agrandis en présence de photons (UV & visible).
Pouvoir séparateur amené à 0,2 µm en lumière visible. Grossissement 1000 fois et plus.
Plusieurs types:

* Ceux qui donnent une observation directe des structures cellulaires: microscope à transmission et à contraste de phase.

* Ceux qui donnent des informations indirectes de la structure cellulaire: microscope à fond noir et mic. polarisant.



Microscope photonique

2. 1. Microscope à fond claire

Description

Partie mécanique: *Statif, Tube binoculaire, Tube porte objectif*

Partie optique: *Source lumineuse, Système condenseur – diaphragme, Objectifs 4x/10x/40x/100x, Oculaires 10x/…*

Principe de formation de l'image

Objectif à image agrandie inversée réelle

Oculaire à image intermédiaire agrandie inversée virtuelle

Caractéristiques essentielles du microscope

Ouverture numérique : *Produit du sinus de l'angle incident maximal possible pour un rayon et de l'indice optique du milieu incident.* ON = n . sin a

Limite de séparation : *la limite de résolution (transverse) d d'un microscope, c'est-à-dire la plus petite distance en dessous de laquelle deux points voisins ne seront plus distingués, peut être exprimée simplement à l'aide de la longueur d'onde d'illumination λ, de l'indice de réfraction n en sortie d'objectif, et du demi angle du cône de lumière maximum accessible α.*

$$d = \frac{0.61 * \lambda}{O_N}$$

Pouvoir de résolution : 1/d

Grossissement : G = g1 . g2

Applications: Histologie, Hématologie, Parasitologie, Bactériologie

2. 2. Microscope à fond noir

Principe

Éclairage par un condenseur à fond noir

Aucune lumière ne pénètre dans l'objectif

Observations des contours de la cellule par diffraction

Applications en Bactériologie

Image obtenue par microscopie à fond noir.

2. 3. Microscope à contraste de phase

Principe

Objectif avec anneau de phase intégré

Modification de la phase des rayons lumineux à variation d'intensité lumineuse

Applications: Observation de cellules vivantes

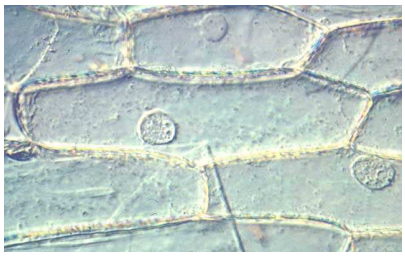


Image obtenue par microscopie à contraste de phase

2. 4. Microscope à fluorescence

Principe de la fluorescence

C'est l'émission de lumière suite à l'absorption de photons, E = h . n = h . c/l´ l2 > l1

Différents types de fluorescence:

Primaire *: produite naturellement par certaines substances biologiques (ex : chlorophylle)*

Secondaire *: obtenue artificiellement en liant un composé non fluorescent avec un composé fluorescent (fluorochromes)*

Les microscopes à fluorescence sont: A lumière transmise ou lumière réfléchie (épifluorescence)

Applications: Bactériologie (cytométrie sur filtre), Immunofluorescence

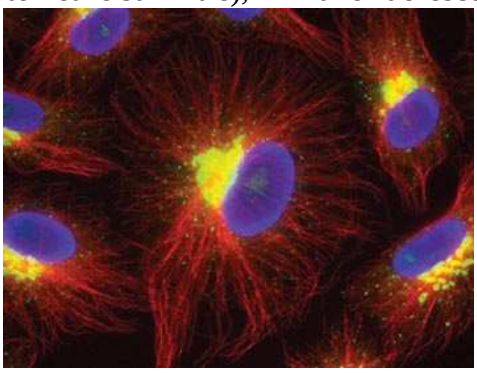


Image obtenue par microscopie à fluorescence

2. 5. <u>Microscope confocal</u>

Principe: Ce microscope permet de collecter l'image réfléchie au niveau d'un plan focal et d'éliminer les images du dessus (dessous) de ce plan par balayage laser

Applications: Neurobiologie

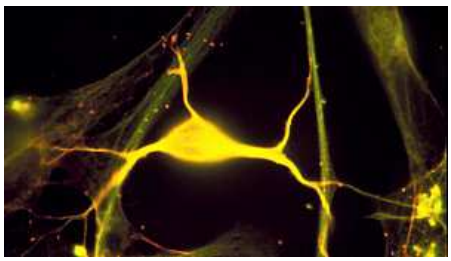


Image obtenue par microscopie confocal

3. Microscopes électroniques

Principe

Etude de l'**ultrastructure** biologique : utilise les électrons émis par une cathode, et accélérée par une forte différence de potentiel, l'image prend forme sur l'écran fluorescent et dépend de la dispersion des électrons par les noyaux atomiques contenus dans l'objet: pouvoir séparateur de 0,5 nm (5 Å). Agrandissement de 10^6 et plus.

Types:

<u>Microscope électronique à transmission</u>

Principe: On diminue la limite de séparation en diminuant la longueur d'onde d'excitation à utilisation des électrons à la place des photons

Caractéristiques 1. d = 1 nm 2. G = de 1400x à 500 000x

Description

Canon à électrodes

Accélérateur d'électrons

Lentille électromagnétique

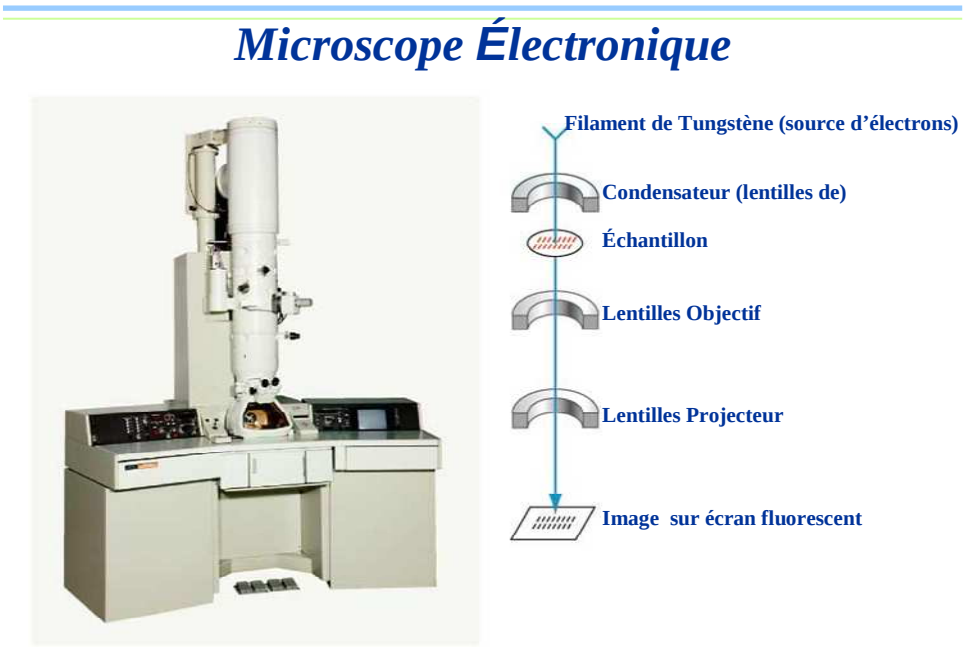
Écran fluorescent de visualisation

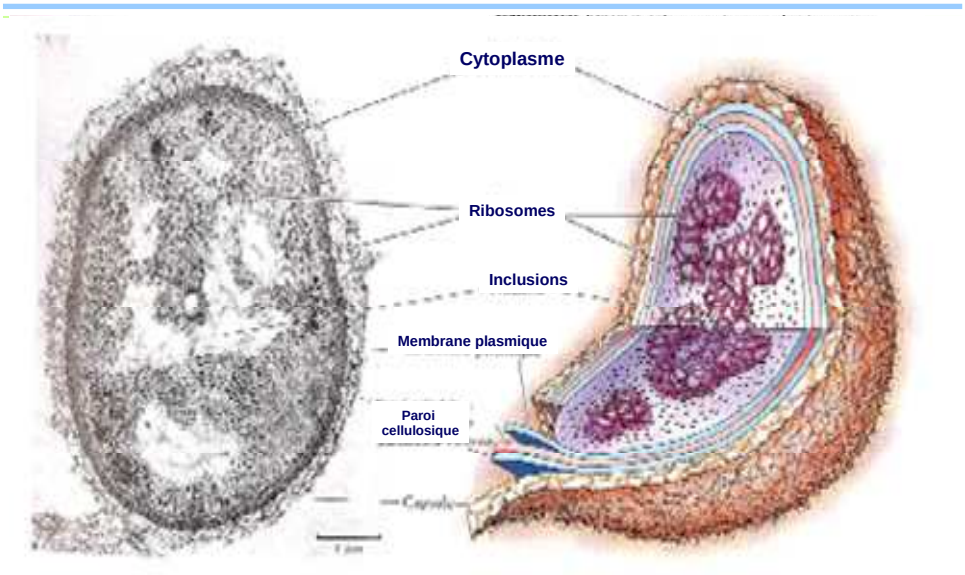
Microscope électronique à balayage

Principe: Les cellules sont traitées par des sels de métaux lourds. Les électrons émis par la cathode vont balayer la surface de la cellule

Caractéristiques 1. d = 10 nm 2. G = 20 000x

Applications: Biologie cellulaire





Aspect de la cellule bactérienne au microscope électronique à transmission

3. Préparation des échantillons

Coloration positive

1. Fixation chimique
2. Déshydratation
3. Inclusion dans la résine
4. Coupes de 50 à 100 nm
5. Dépôt de sels de métaux lourds à augmentation du contraste

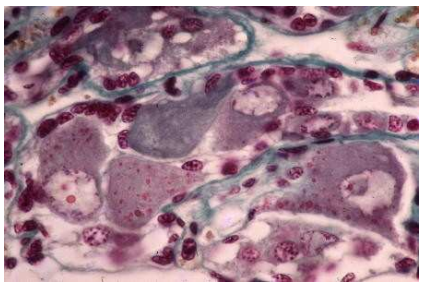


Image obtenue par coloration positive

Coloration négative

- Les sels de métaux lourds se déposent après évaporation de l'eau autour des particules

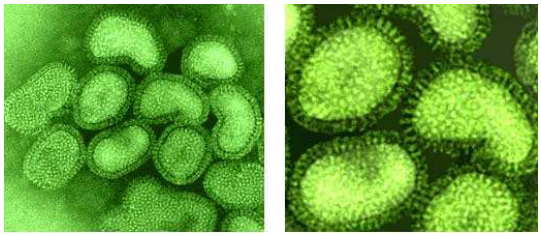


Image obtenue par coloration négative

Ombrage de particules & réplication de surface

- Réalisation de répliques quand la surface est trop
- épaisse pour être traversée par les électrons

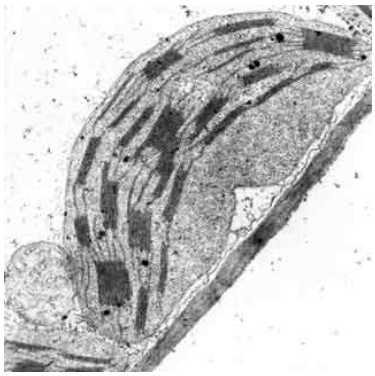


Image obtenue par ombrage

Cryodécapage & cryofracture associée à la microscopie à balayage. Obtention des répliques (impression de relief) des ultrastructures cellulaires

Cryofracture

- *Fixation par Congélation des organites dans l'azote liquide* à -196°C.
- *Fracture du bloc*: Clivage tangentielle des membranes en leur milieu.
- *Réplication par ombrage*

Cryodécapage

- *Congélation ultra rapide*
- *Fracture de l'échantillon*
- *Sublmation de l'eau sous vide*
- *Réplication*
- *Vaporisation*: La surface fracturée est vaporisée par un métal lourd (or ou platine) puis par du carbone (pour renforcer la coupe).

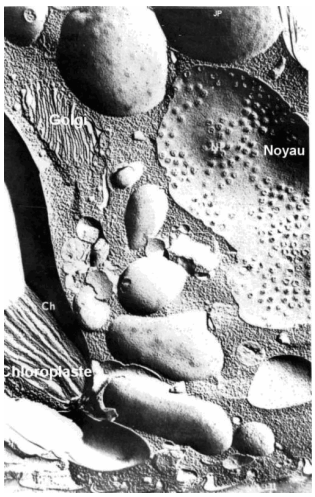


Image obtenue par cryodécapage

II. Les techniques de fractionnement des constituants cellulaires (fractionnement cellulaire)

Préparation de l'homogénat cellulaire

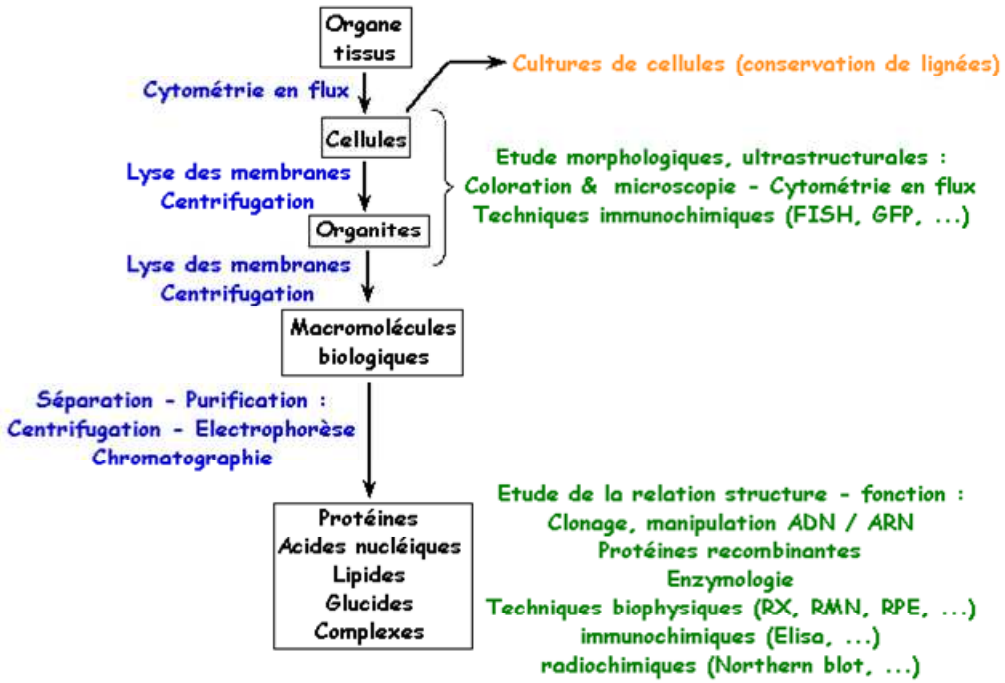
1. Méthodes permettant la rupture de la membrane plasmique
a. Mécanique : broyage
b. Choc osmotique
c. Congélations décongélations successives
d. Ultra-sons
e. Attaque enzymatique

2. Précautions à respecter pour obtenir un bon homogénat
a. Liquide isotonique
b. Basse température
c. En présence d'agents réducteurs
d. PH neutre

Séparation des organites
Par centrifugation différentielle: Augmentation de la vitesse et du temps
Par centrifugation en gradient de densité (ultracentrifugation): Principe : séparation des organites en fonction de leur constante de sédimentation, fonction de leur masse molaire:
1. Séparation en solution de saccharose de 5 à 20 %
2. Dépôt des organites en surface
3. Centrifugation : arrêt de la migration quand les organites rencontrent une couche de saccharose de densité supérieure à la leur
4. Séparation des organites en fractions (= aliquotes)

Suivi de la séparation des fractions
Utilisation de marqueurs moléculaires des organites: Ce sont des enzymes caractéristiques de ces organites. On peut aussi évaluer la purification par microscopie

Applications
Utilisation de systèmes cellulaires. Ex : synthèses protéiques in vitro

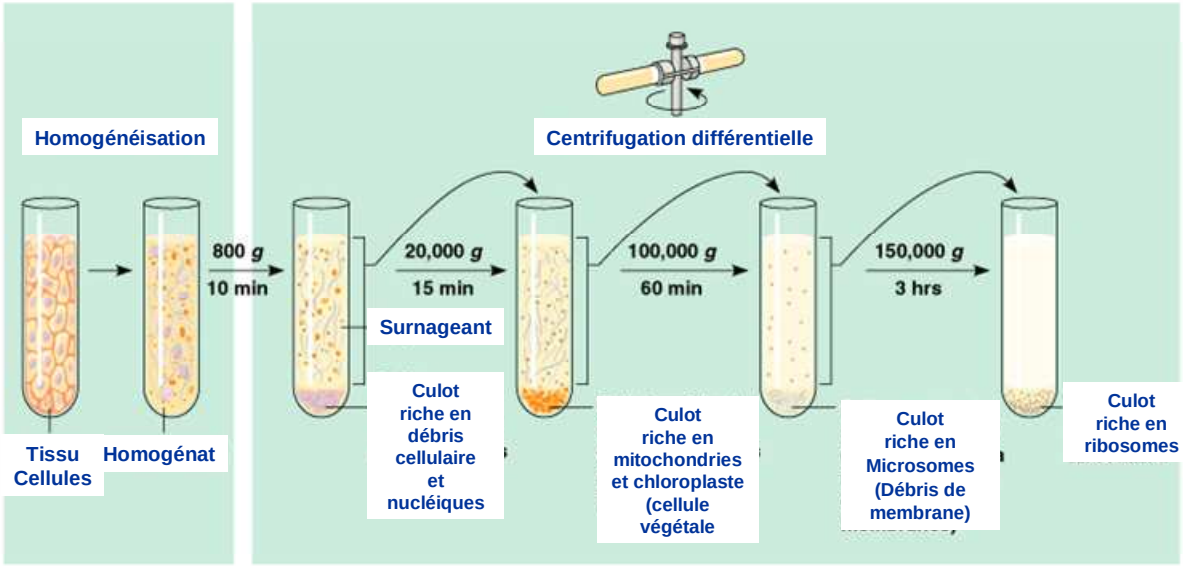


Synopsis général des techniques pour aller de l'observation des tissus à la purification et l'analyse des macromolécules biologiques

Techniques et Buts

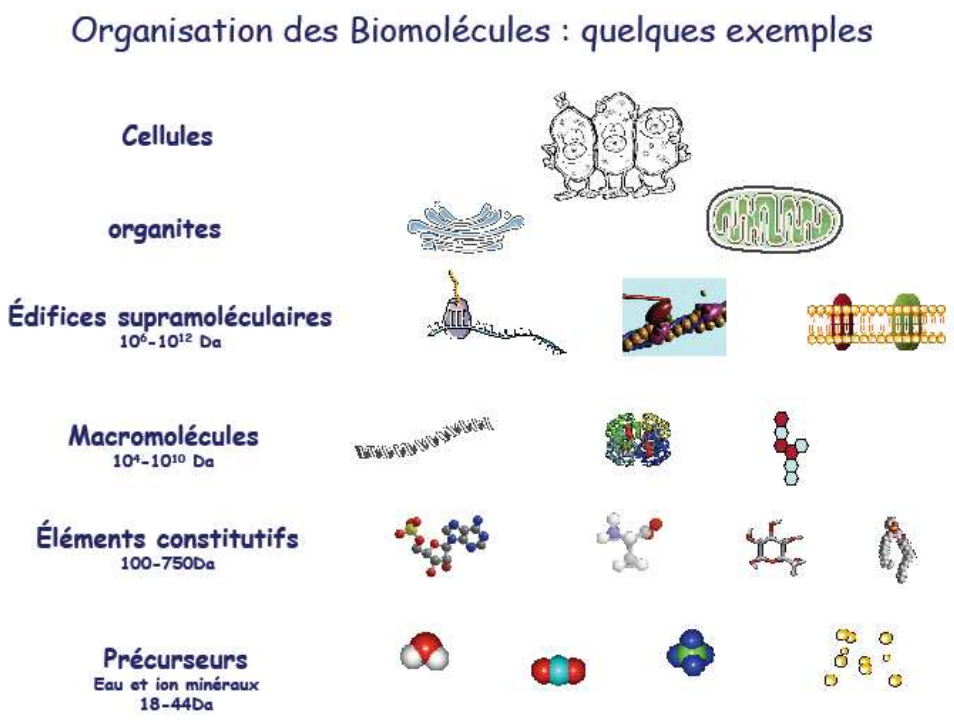
Techniques	But
coupes de tissus (microtome) - isolement de cellules	Prélèvement
coloration - histologie - immunohistochimie	observation microscopique - cytologie
cytométrie en flux	tri des cellules - observation de différents marqueurs phénotypiques - apoptose
culture cellulaire	multiplication des cellules - sauvegarde des cellules
immunohistochimie	localisation intracellulaire - mise en évidence d'organites, de macromolécules typiques
lyse des cellules (détergents, chlorure guanidinium, lysozyme, ...)	rupture de la membrane plasmique - extraction de macromolécules ou d'organites
ultracentrifugation en gradient de densité (saccharose)	séparation des cellules en fonction de la constante de sédimentation (Svedberg)
ultracentrifugation différentielle	séparation et purification des organites
techniques de chromatographie (échange d'ions, gel de filtration, affinité, ...)	séparation et purification des macromolécules biologiques (surtout protéines)
immunocytochimie (ELISA, EIA, "radioimmunoassay", ...)	localisation cellulaire des macromolécules biologiques
electrophorèse sur gel d'agarose	analyse de l'ADN (tailles et formes des fragments)
electrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions natives ou dénaturantes (SDS)	analyse des protéines (masse molaire / nombre de sous-unité / structure quaternaire)
méthodes de dosage spectrophotométrique (absorption à 280 nm, méthode de Bradford, méthode de Lowry ...)	détermination de la concentration des protéines
dosage enzymatique	mesure de l'activité catalytique des enzymes
construction de banques et clonage d'ADNc	surexpression de protéines recombinantes

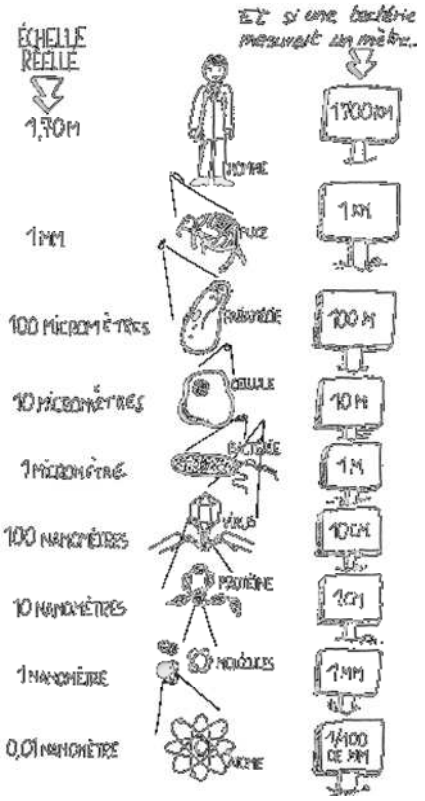
Centrifugation



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

Isolement à partir d'une population de cellules un organite bien défini pour lui subir des méthodes d'analyse physiques ou biochimiques de ses constituants moléculaires.

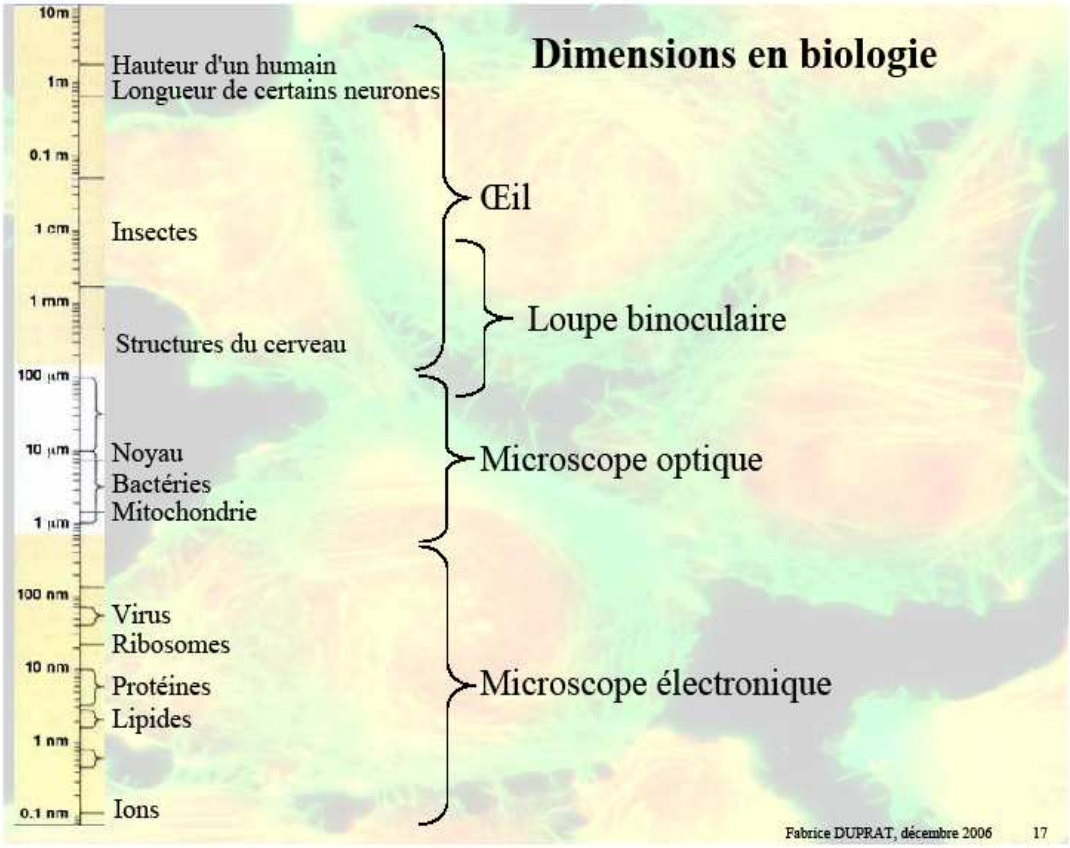




Échelles de taille en Biologie

4000 ans	Durée de vie des plus vieux arbres
1 an	Durée de vie d'une souris
1 mois	Durée de vie d'une drosophile
2 jours	Reproduction d'une cellule animale en culture
20 min	Reproduction d'une bactérie
20 sec	Synthèse d'une protéine
1 ms	Réaction enzymatique
10 ps	Interaction initiale d'un photon avec l'oeil ou les chloroplastes

Spatiales **Temporelles**



Chap. III: Composition chimique de la cellule

I. Introduction
II. Constituants chimiques inorganiques
1. Eau
2. Ions inorganiques
III. Constituants chimiques organiques
1. Glucides
2. Lipides
3. Protéines
4. Nucléotides (Acides nucléiques)

I. Introduction

Pour comprendre le vivant sur le plan composition, une comparaison est faite entre la composition chimique entre la biosphère, la cellule animale et la cellule végétale (Tableau 1).

Biosphère (%)			Cellules animales (%)		Cellules végétales (%)	
O	(8)	50,0	O	62,8	O	77,9
Si	(14)	25,8	C	19,4	C	11,3
Al	(13)	7,3	H	9,3	H	8,7
Fe	(26)	4,2	N	5,1	N	0,8
Ca	(20)	3,2				
Na	(11)	2,3	Ca	1,38	P	0,70
K	(19)	2,3	S	0,64	Ca	0,58
Mg	(12)	2,1	P	0,63	K	0,22
H	(1)	0,9	Na	0,26	S	0,10
			K	0,22	Mg	0,08
Ti	(22)	0,43	Cl	0,18	Cl	0,07
Cl	(17)	0,20	Mg	0,04	Na	0,03
C	(6)	0,18				
P	(15)	0,11	F	0,009	Si	0,0093
S	(16)	0,11	Fe	0,005	Fe	0,0027
F	(9)	0,10	Si	0,004	Al	0,0025
Ba	(56)	0,08	Zn*	0,002	B*	0,0007
Mn	(25)	0,08	Al	0,001	Mn	0,0003
N	(7)	0,03	Cu*	0,0004	Zn	0,0003
Se	(34)	0,02	Se	0,0002	Cu	0,0002
			Br*	0,0002	Ti	0,0001
divers		0,47	Mn	0,0001		
			I	0,0001	divers	0,0001
			divers	0,0002		

(–) : n° atomique (*) Zn (30), Cu (29), Br (35), B (5)

Tableau 1.1
Composition pondérale élémentaire comparée entre la biosphère et deux types d'organismes : animal (corps humain) et végétal (pied de luzerne)
Trois groupes d'atomes, respectivement abondants, peu abondants et rares peuvent être distingués chez les êtres vivants ; quatre éléments : C, H, O, N, rendent compte de plus de 96 % de la masse de ces derniers. L'abondance en O, significativement supérieure chez les Végétaux, tient au degré d'hydratation plus élevé en moyenne chez les cellules végétales, relativement aux cellules animales. (D'après G. Bertrand, 1951).

De la comparaison du monde minéral et les êtres vivants ressort que:

Biosphère (%)		*Cellules Animale & Végétale (%)*
0,2	C	10 - 20
0,9	H	9
50	O	60 - 80
0,03	N	1 - 5

Les êtres vivants manifestent des propriétés étonnantes: réactions, croissance, reproduction, déplacement….
Les atomes sont les mêmes, ils engendrent des molécules qui demeurent inanimées.

Au niveau cellulaire, le vivant peut être étudié chimiquement et expliquer ses caractéristiques.
La cellule est le siège de nombreuses réactions biochimiques. Comprendre la structure et le fonctionnement cellulaire revient à connaître les différentes molécules qui coopèrent pour assurer les nombreuses activités de la cellule et créer les diverses structures cellulaires.
Les constituants chimiques sont subdivisés en deux groupes:

- **Inorganiques**: l'eau et les ions minéraux.
- **Organiques**: Protéines, acides nucléiques, sucres et lipides.

Le protoplasme de la cellule végétale et animale contient:

- 75 à 85 % d'eau,
- 10 à 20 % de protéines,
- 1 à 2 % d'acides nucléiques,
- 0,2 à 2 % de glucides,
- 1 à 5 % de lipides,
- 1 à 1,5 % de substances inorganiques.

La compréhension de la structure et du fonctionnement cellulaire nécessite la connaissance des différentes molécules qui coopèrent pour assurer les nombreuses activités de la cellule et créer les diverses structures cellulaires
Ex: E. coli contient 5.000 à 6.000 molécules organiques différentes; les cellules eucaryotes, 10.000 dans certaines cellules). La cellule eucaryote renferme globalement 1000 fois plus de molécules d'eau, de sucre, de lipides, de protéines et de minéraux.

Les biomolécules et leur hiérarchie

Ce tableau présente la composition moyenne des cellules vivantes

Composants	Pourcentage de la masse totale
Eau	70%
Protéines	18%
Lipides	5%
ADN	0,25%
ARN	1,1%
Polyosides	2%
Molécules simples (acides aminés, acides gras, glucose)	3%
Ions minéraux	1%

Le développement et le fonctionnement d'un être vivant nécessitent la biosynthèse de quelques milliers à quelques dizaines de milliers de molécules spécifiques codées par l'ADN.

L'isolement des particules subcellulaires et la détermination de leur composition chimique a permis de subdiviser ces constituants en deux groupes:

- Inorganiques: l'eau et les ions minéraux.
- Organiques: Protéines, acides nucléiques, sucres et lipides.

II. Constituants chimiques inorganiques

1. Eau

L'eau tient la première place parmi les substances de la cellule et sa quantité varie avec l'âge d'un être vivant. Le rôle de l'eau est multiple:

* milieu de dispersion pour le système colloïdal du protoplasme et de l'activité métabolique :

- *Soit par addition d'eau*: catalyse enzymatique (hydrolyse). Ex: saccharose en fructose et glucose.

- *Soit par retrait de l'eau* et lien des molécules par une liaison covalente: réaction de déshydratation-condensation. Ex: Formation de liaison peptidique.

* Intervention dans la stabilité des macromolécules (ADN) grâce aux liaisons hydrogènes.

* L'eau est un solvant naturel aux ions minéraux et à d'autres substances organiques solubles et est responsable du potentiel hydrique des systèmes biologiques par dissociation en H^+ et OH^- □ pH physiologique de 7 qui peut changer dans certaines conditions.

2. Ions inorganiques

Les atomes et les ions peuvent engager la formation des liaisons.
L'arrangement des électrons autours du noyau détermine l'habilité de l'atome à former des liaisons.
Les électrons non couplés peuvent être partagé, transférer à un autre atome avec un électron non couplé, ou mis en paire par l'acquisition d'un électron non couplé d'un autre atome.

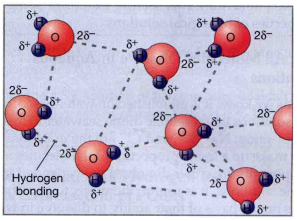
- Les sels en solution sont dissociés en anions (Cl^-,...) et en cations (Na^+, K^+,...), et sont importants pour le maintien de la pression osmotique et de l'équilibre acido/basique de la cellule.
- Les sels peuvent exister sous forme solide (carbonates de Ca des os).
- Certains ions sont des cofacteurs de l'activité enzymatique.
- Le principal anion est le phosphate (présence dans le sang, liquide tissulaire, phospholipides, nucléotides et phosphoprotéines).

Ex: * H_2PO_4- et HPO_4^{2-}: Systèmes tampon, stabilise le pH sanguin et tissulaire.

* K^+ est indispensable au métabolisme cellulaire durant les synthèses protéiques.

* Na^+ dans la pompe K^+/Na^+ et nécessite la présence de Mg^{2+}, intervient aussi dans les cellules nerveuses et musculaires.

Les molécules peuvent établir différentes entre elles différentes liaisons:
Liaisons Covalentes: Liaisons fortes résultant du couplage de paire d'électrons partagés (un électron de l'un et un deuxième de l'autre). Nécessite de l'énergie pour briser la liaison.
Liaisons Ioniques: La liaison se forme quand un atome arrache complètement un électron d'un autre atome.
Liaisons hydrogènes: Se sont des forces d'attraction faible entre les atomes d'hydrogène d'une part et autres atomes tels que l'oxygène, l'azote ou le fluore d'autre part.



Van der Waals forces: Forces d'attraction très faibles entre les noyaux des atomes et les électrons des atomes environnants.

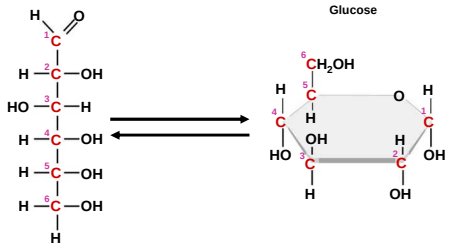
II. Les constituants chimiques organiques.

1. Les glucides ou sucres

Ce sont des hydrates de carbone, d'origine surtout végétale et constituent une source d'énergie chimique pour les cellules animales et végétales mais peuvent être des constituants des parois cellulaires.

Ils ont la formule basique de: (CH2O)n ou CnH2nOn. Par exemple, glucose est C6H12O6 qui est le plus important des “carbohydrates”.

Structure de la molécule du glucose



Les glucides résultent de l'association (Aldéhyde ou cétone + fonctions alcools primaire ou secondaire). Ils ont les caractéristiques suivantes:

- *Souvent* des HEXOSES et Pentoses cycliques, parfois structures linéaires
- Macromolécules: polyoses, polyosides ou polysaccharides
- Molécules de base: oses
- *Diversité* des liaisons, linéaire ou branchée
- Stéréo-isomérie
- Fonctions cellulaires: énergie métabolique (Glucose, amidon, glycogène), molécules de l’identité cellulaire (reconnaissance, adhésion, tissu), structurale (cellulose)

Il existe plusieurs classes:

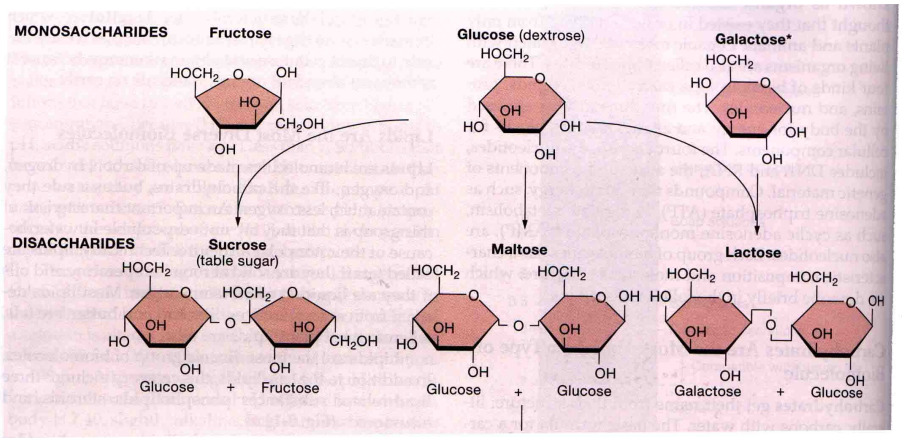
- **Monosaccharides** et **disaccharides**: solubles dans l'eau, cristallisent et passent facilement à travers les membranes cellulaires
- **Polysaccharides** ne cristallisent pas et ne passent pas à travers les membranes.

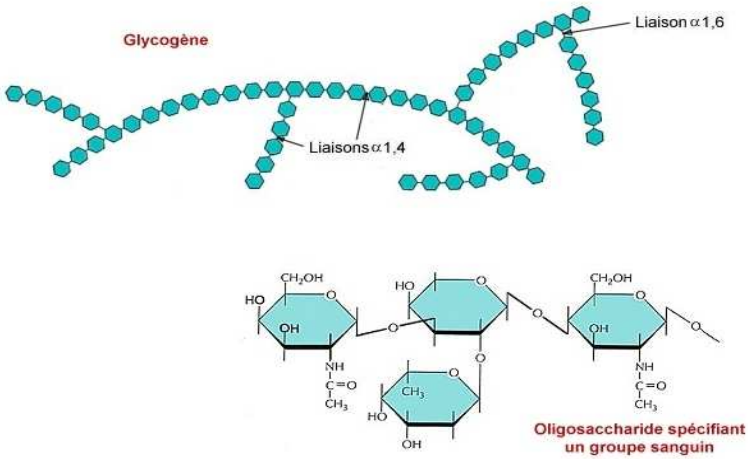
<u>Monosaccharides</u>: un sucre pentose (ribose et désoxyribose); hexoses (glucose, principale source d'énergie).

<u>Disaccharides</u>: deux sucres, saccharose (glucose + fructose) et maltose (2 glucoses) chez les végétaux; lactose (galactose + glucose) chez les animaux.

<u>Polysaccharides</u>: Quand plusieurs molécules de <u>glucose</u> se complexent ensemble

- Cellulose (substance de structure de la cellule végétale)
- Amidon (substance de réserves végétale)
- Glycogène (substance de réserve animale)





Monosaccharides, oligosaccharides et polysaccharides

D'après B. Alberts et al., 1994

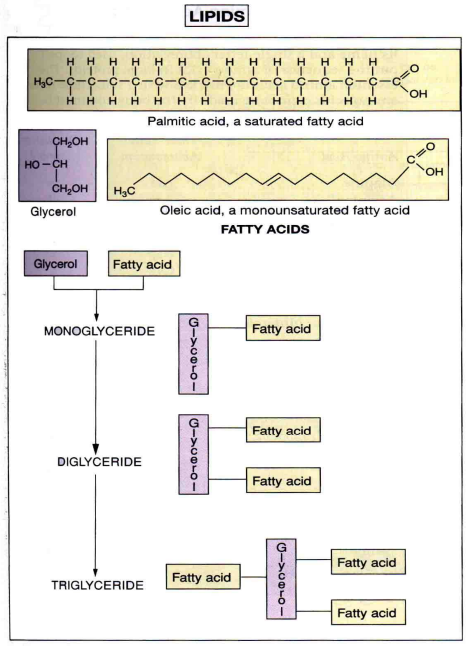
2. Les lipides

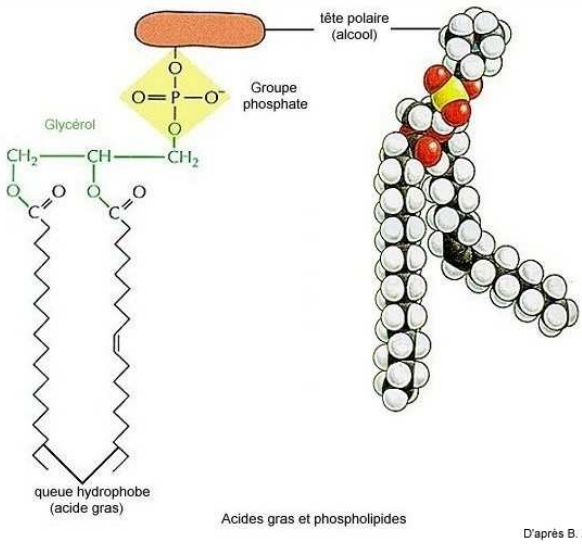
Les lipides sont des hydrophobes de carbone, insoluble dans les solutions aqueuses, mais sont solubles dans les solvants de graisse (éther, acétone). Ceci est causé par la prédominance de longues chaînes hydrocarbonées aliphatiques. Ils sont composés de carbone, hydrogène et oxygène comme les carbohydrates mais le nombre d'atome d'oxygène est moins important.

Les lipides sont pourvus de 2 pôles: hydrophile et hydrophobe, mais c'est le pôle hydrophobe qui domine. Ils sont classés en lipides simples et complexes:

* <u>Lipides simples</u>: esters alcooliques des acides gras, comme les triglycérides, qui sont des graisses neutres qu'on trouve dans les tissus adipeux.

* <u>Lipides complexes</u>: Ex. les phospholipides ou glycérolipides des membranes cellulaires. Dans les phospholipides, le glycérol est lié à 2 chaînes d'acides gras, le site restant est lié à une molécule d'acide phosphorique elle même combinée à un composé hydrophile (éthanolamine, choline et la serine). Les phospholipides assurent la base de l'architecture membranaire. Ils peuvent s'organiser en micelle ou feuillet bimoléculaire.

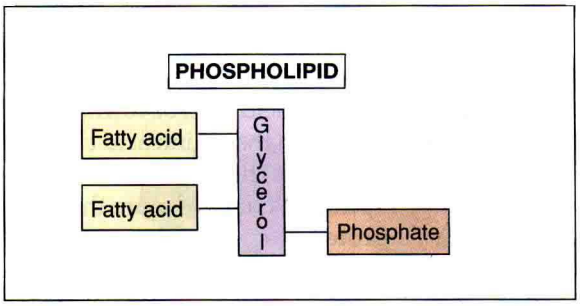




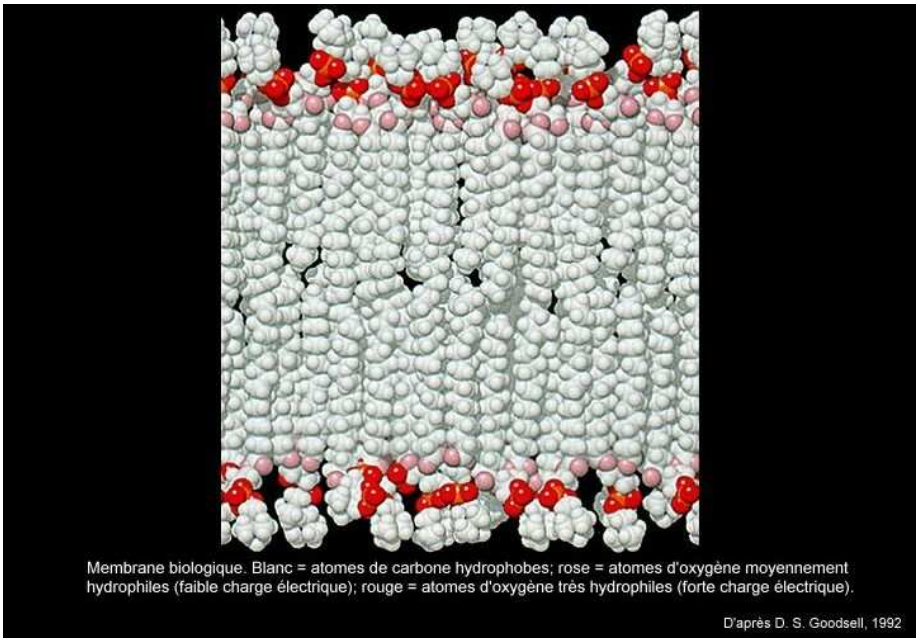
Acides gras et phospholipides

D'après B. Alberts et al., 1994

Les acides gras saturés ou insaturés courants en C16, C18
Les triglycérides (le beurre) sont des ester d'acides gras et du glycérol, ils ont une fonction de réserve énergétique.
Les phospholipides (Phosphatidylcholine) sont deseEsters d'acides gras et du glycérol (Phosphatidyl-X), ils ont une fonction structurale (membrane).



Les stéroïdes (cholestérol) ont une fonction structurale et hormonale
Les lipides ont tous la propriété d'auto-assemblage sous forme de micelle grâce à leur Amphiphilie.



3. Les protéines

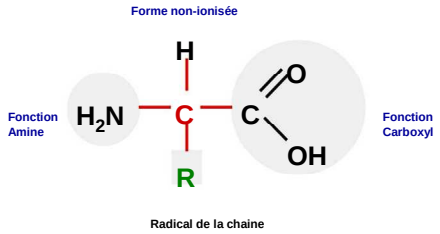
Ce sont des composés indispensables des cellules vivantes:

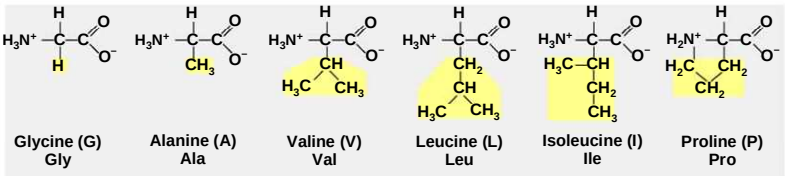
- Les protéines de structure des membranes cellulaires, des capsides virales,
- Rapport immunologique entre les anticorps et antigènes,
- Hormones et enzymes.

Les protéines sont formées à partir des 20 acides aminés reliés par des liaisons peptiques entre le groupement carboxyle d'un acide aminé et la fonction amine du suivant.

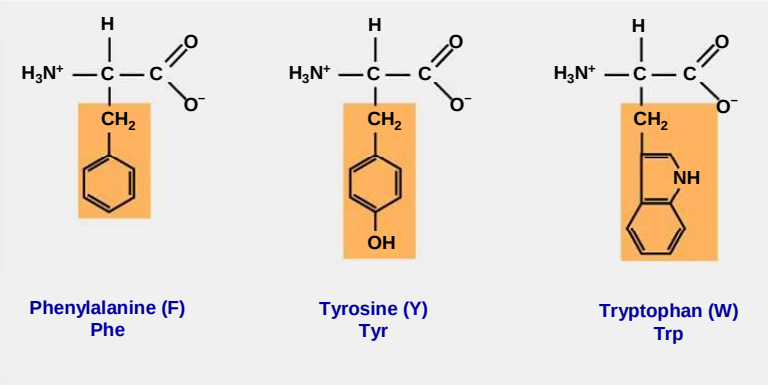
Acide aminé	Abréviation	Symbole
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Aspartic acid	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamic acid	Glu	E
Glutamine	Gln	Q
Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Glycine	Gly	G
*Histidine	His	H
*Isoleucine	Ile	I
*Leucine	Leu	L
*Lysine	Lys	K
*Methionine	Met	M
*Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
*Threonine	Thr	T
*Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
*Valine	Val	V

Tous les amino acides ont la même structure générale.

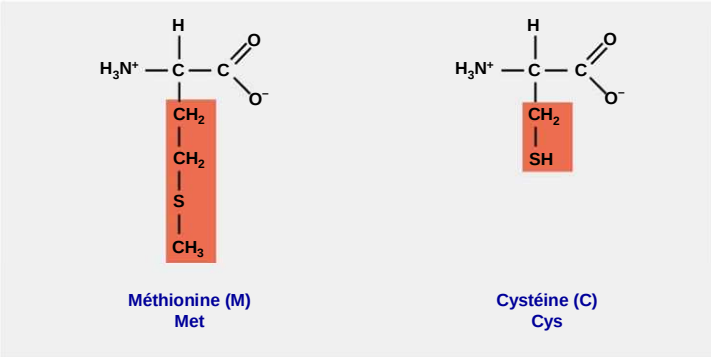




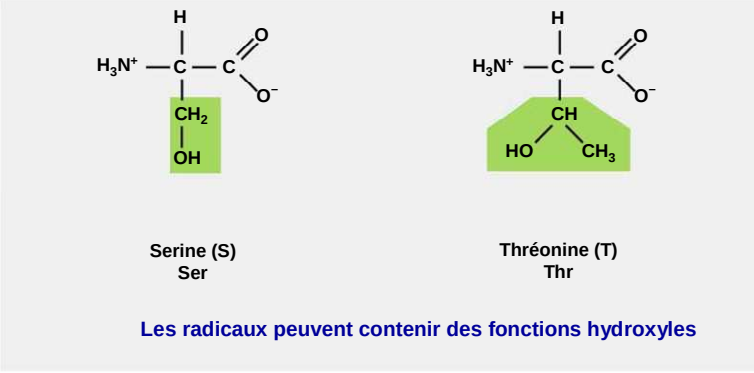
Les radicaux sont composes de carbone et/ou d'hydrogène.
Chaque AA a un radical différent.



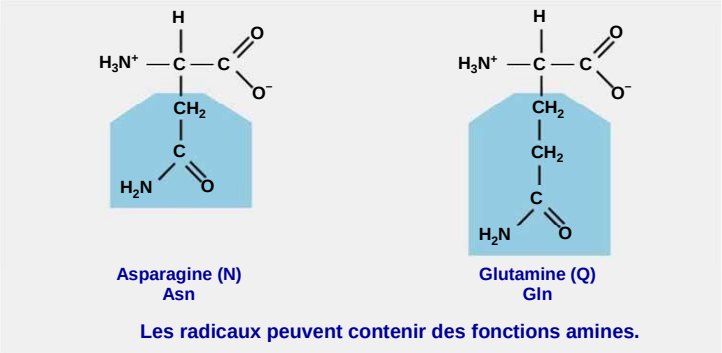
Les radicaux peuvent contenir des structures cycliques.

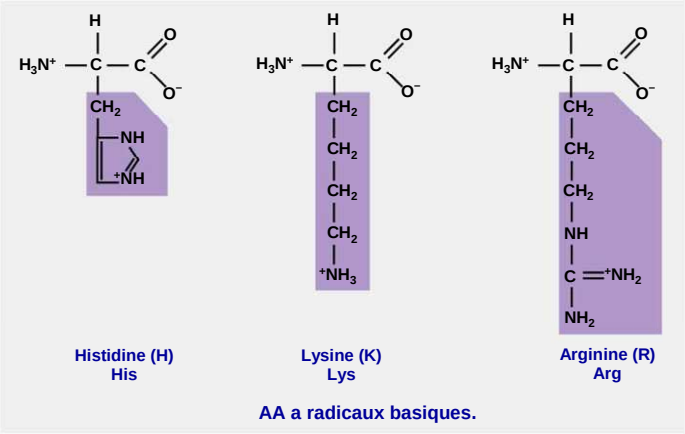


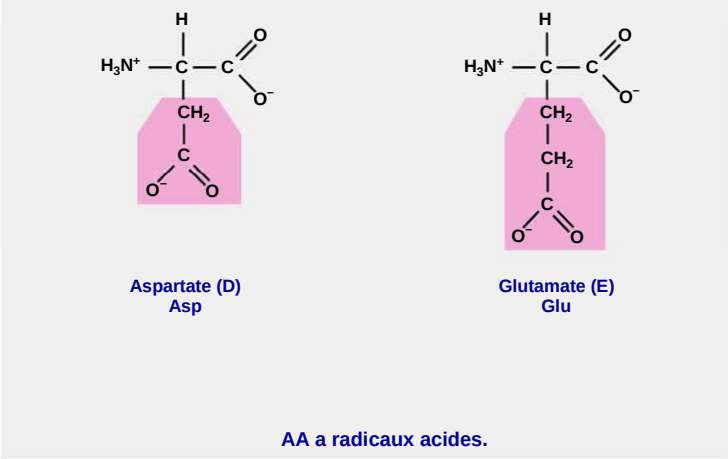
Les radicaux peuvent contenir du sulfure.



Les radicaux peuvent contenir des fonctions hydroxyles







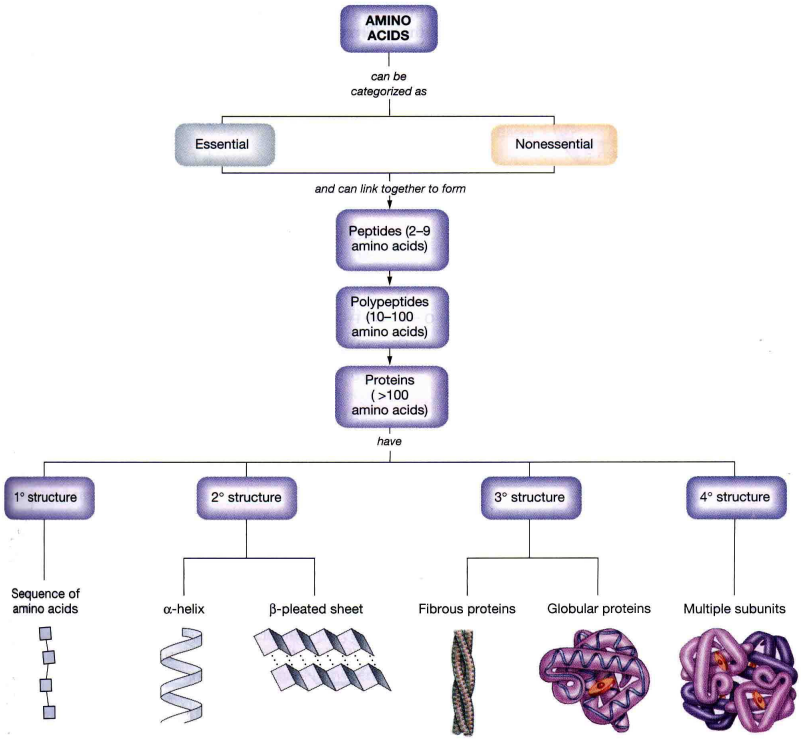
Il existe une panoplie de protéines qui diffèrent par leur structure primaire.
On trouve les protéines seules ou conjuguées (rattachés) à une fonction non protéique (groupement prosthétique : nucléoprotéines, lipoprotéines et chromoprotéines).

Glucides + Protéines = GlycoProtéines (Surface Cellulaire)
Lipides + Protéines = LipoProtéines (Sang)

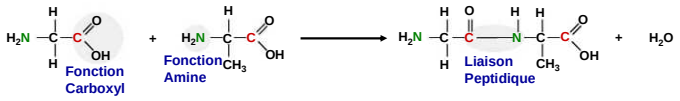
Si l'on classe les protéines sur base de leur structure, on distingue:
Les protéines **fibreuses**: chaînes de polypeptides en parallèles sous forme de rangées (fibres insolubles dans l'eau mais peuvent être solubilisées dans des solutions salines : Kératine, collagène,...).
Les protéines **globulaires**: chaînes de polypeptides se mettant en sphère, solubles dans les solutions aqueuses. Elles occupent une fonction dynamique: enzymes, hormones, et protéines de transport.

Si l'on classe les protéines sur base de leur fonction, on distingue:

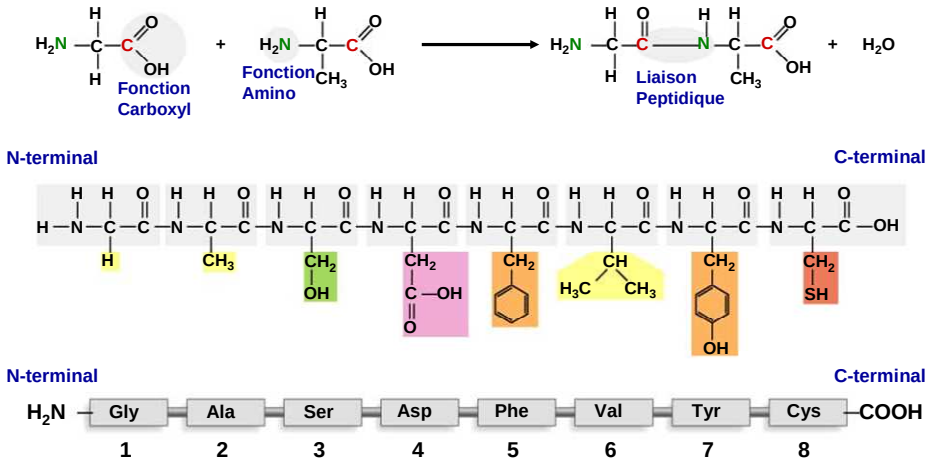
a- Enzyme. Protéine impliquée dans le métabolisme cellulaire
b- Protéines de réserve: albumine des œufs, glutelline du blé.
c- Protéine de transport: hémoglobuline.
d- Protéine structurale: protéines des membranes cellulaires.



Formation et structuration des protéines

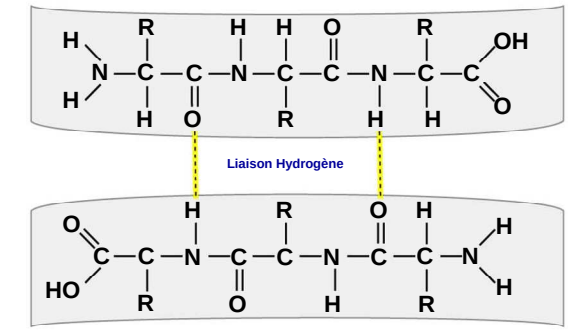


Formation de la liaison peptidique entre deux AA.

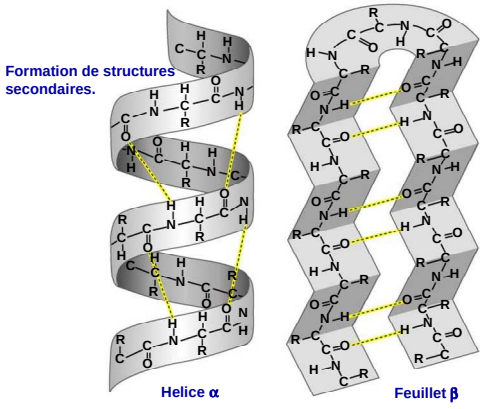


Assemblage des acides aminés lors de la synthèse des protéines

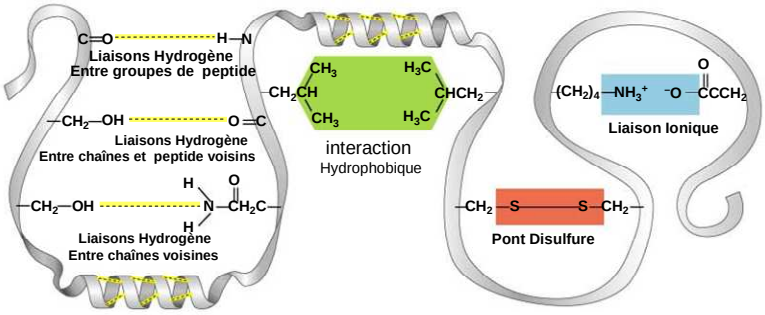
Les protéines peuvent avoir des structures:
Structure Primaire: acides aminés liés par des liaisons peptidiques.
Structure Secondaire: Liaison Hydrogène entre -COOH et -NH2 de parties différentes du même polypeptide formant des hélices alpha et des feuilles/feuillets bêta.



Des liaisons Hydrogènes se forment entre les chaînes des peptides.

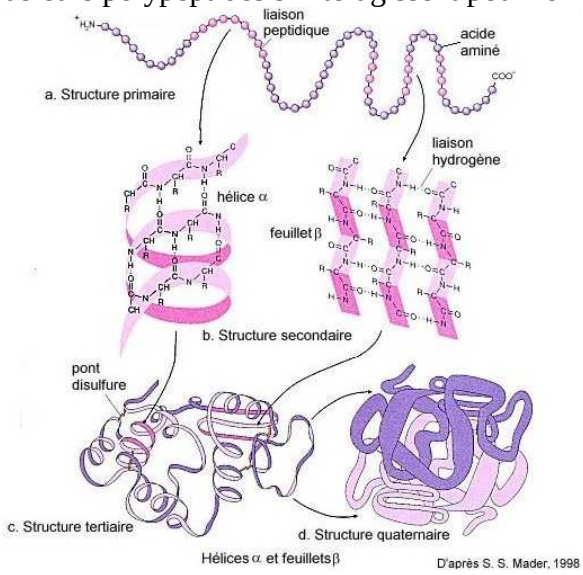


Structure Tertiaire: Résultat de réactions entre les groupes R positionnés dans différentes parties du même polypeptide.

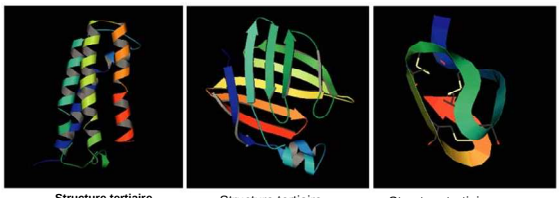


Les interactions qui déterminent la structure tertiaire des Protéines.

Structure Quaternaire: Plusieurs polypeptides s'interagissent pour former une Protéine.



Résumé: structure des protéines

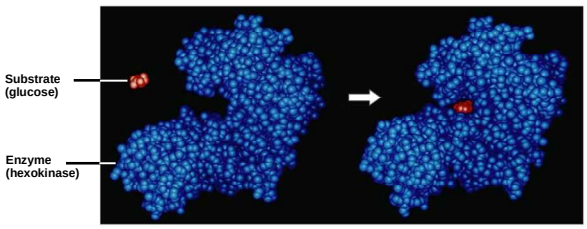


Structure tertiaire composée essentiellement d'hélice α

Structure tertiaire composée essentiellement Feuillet β

Structure tertiaire **Riche en pond disulfure**

Les Structures Tertiaires sont diverses.



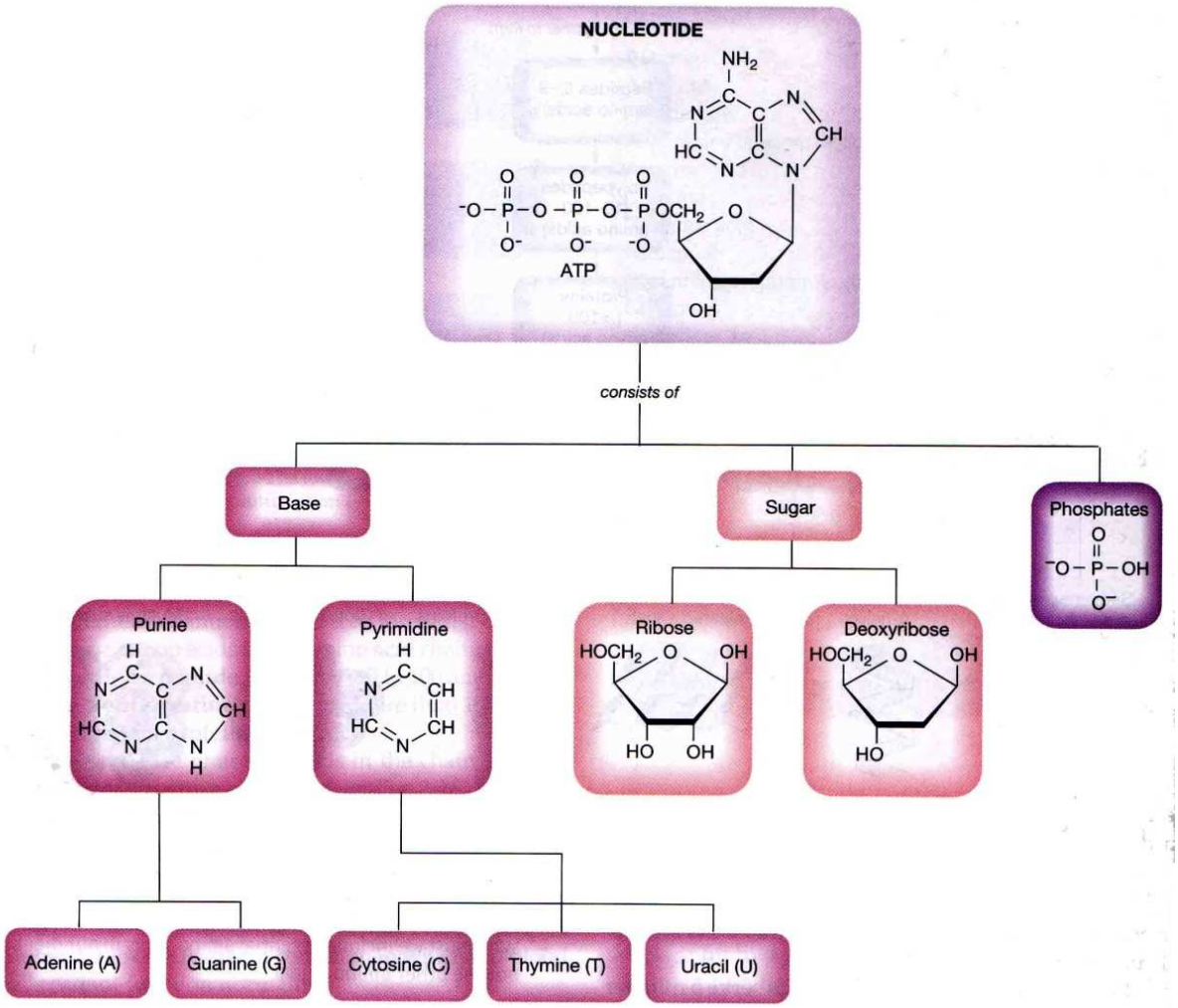
Spécificite entre le substrat et l'enzyme

4. Les acides nucléiques

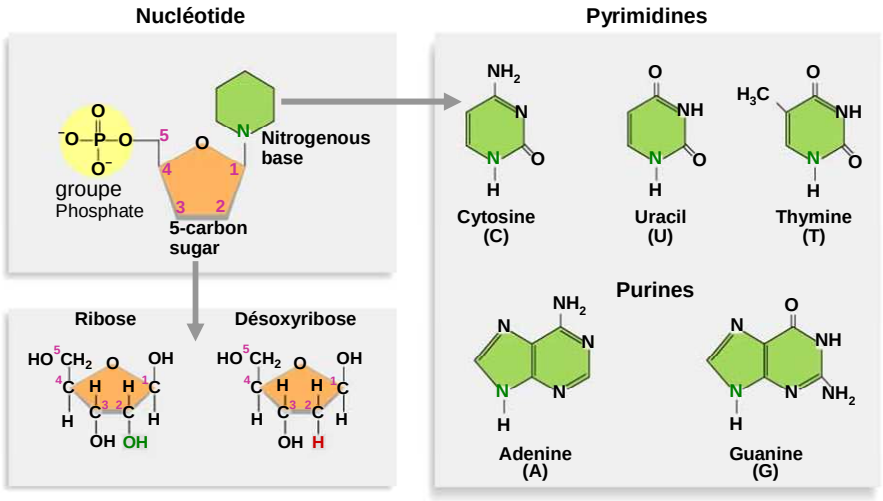
Ils résultent de l'association des nucléotides.

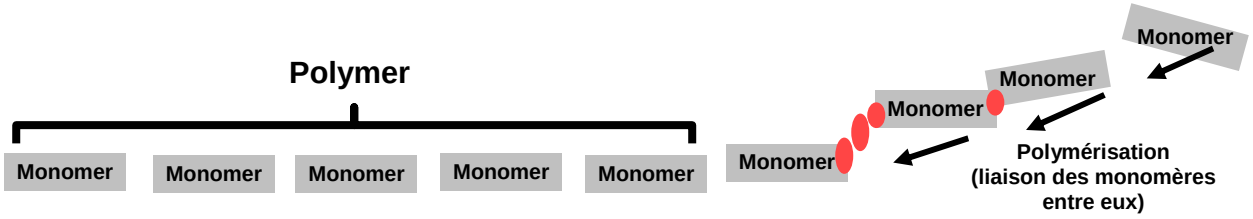
Un nucléotide est formé de composées cycliques à base azotés liés à un glucide à 5 carbones (riboses ou désoxyribose) et à un groupement phosphoré.

Les cycles azotés: cytosine (C), la thymine (T) et l'uracile (U) dérivent du cycle hexagonal, la *pyrimidine*. La guanine (G) et l'adénine (A) dérivent de la *purine*, un composé bicyclique à 9 carbones.



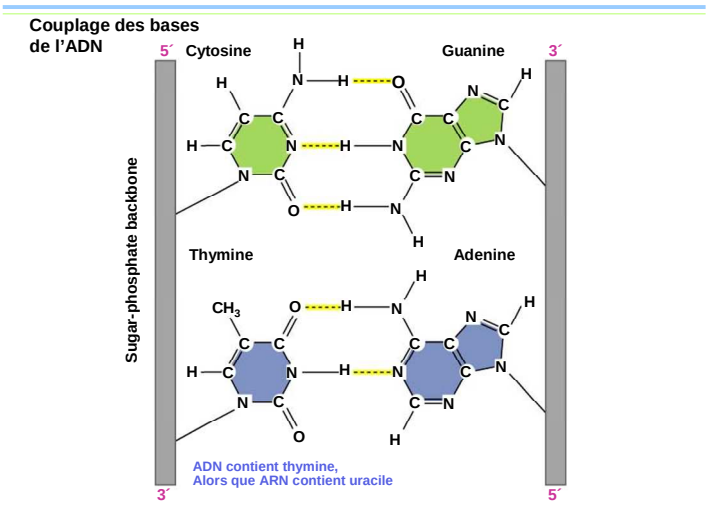
Nucléotide: structure et composition





Formation des acides nucléiques

Les acides nucléiques possèdent:
Structure Primaire: déoxyribonucléotides lies par des liaisons phosphodiesteres.
Structure Secondaire: double hélice formée par des liaisons hydrogènes entre les bases azotées de deux brins d'ADN:
A se lie a T, C se lie a G.
ADN n'a pas d'activité catalytique: il est chimiquement moins réactif que l'ARN.



L'ADN est une double hélice.

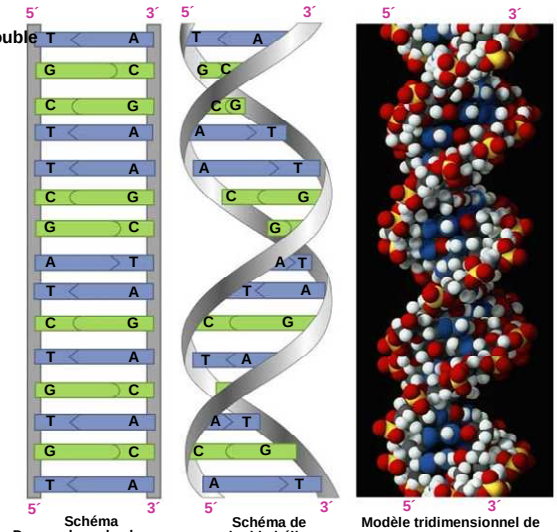
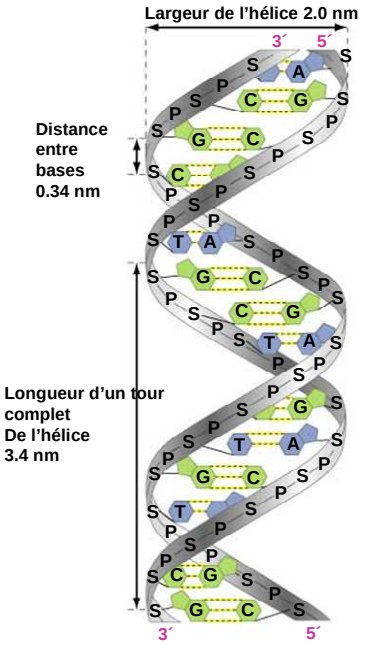
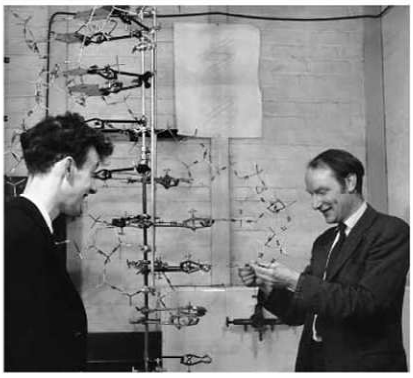


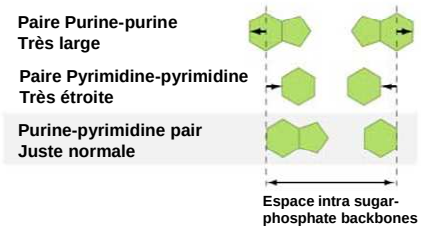
Schéma De couplage des bases

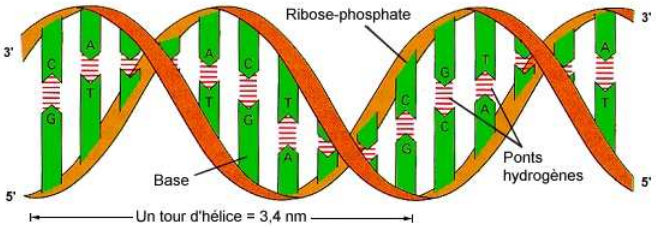
Schéma de double hélice

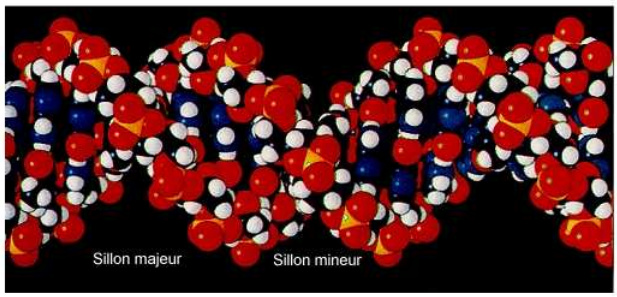
Modèle tridimensionnel de la double hélice







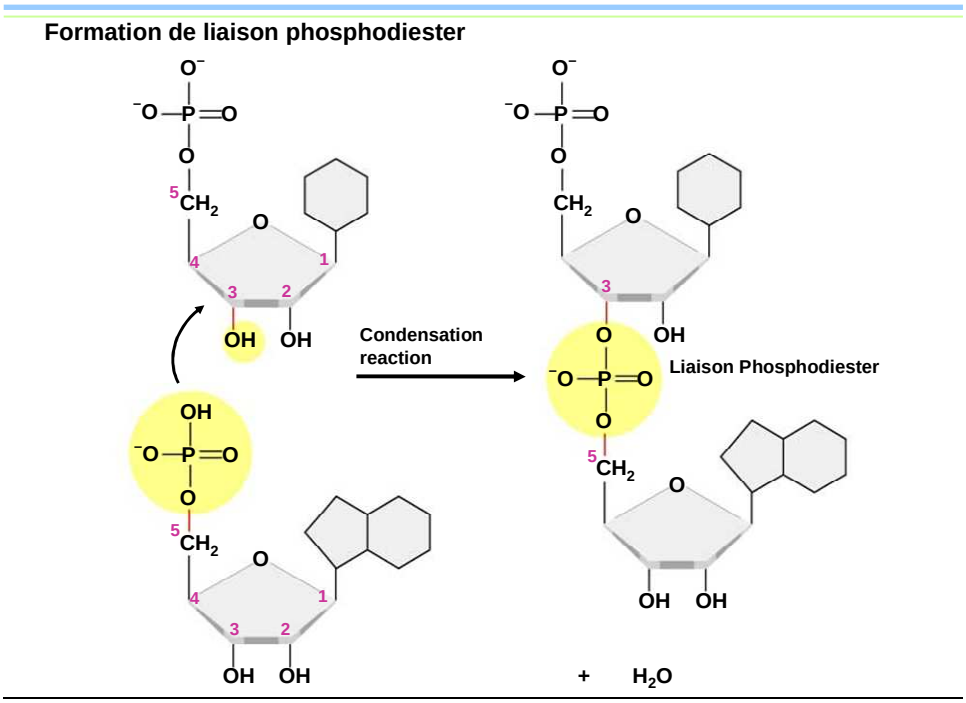


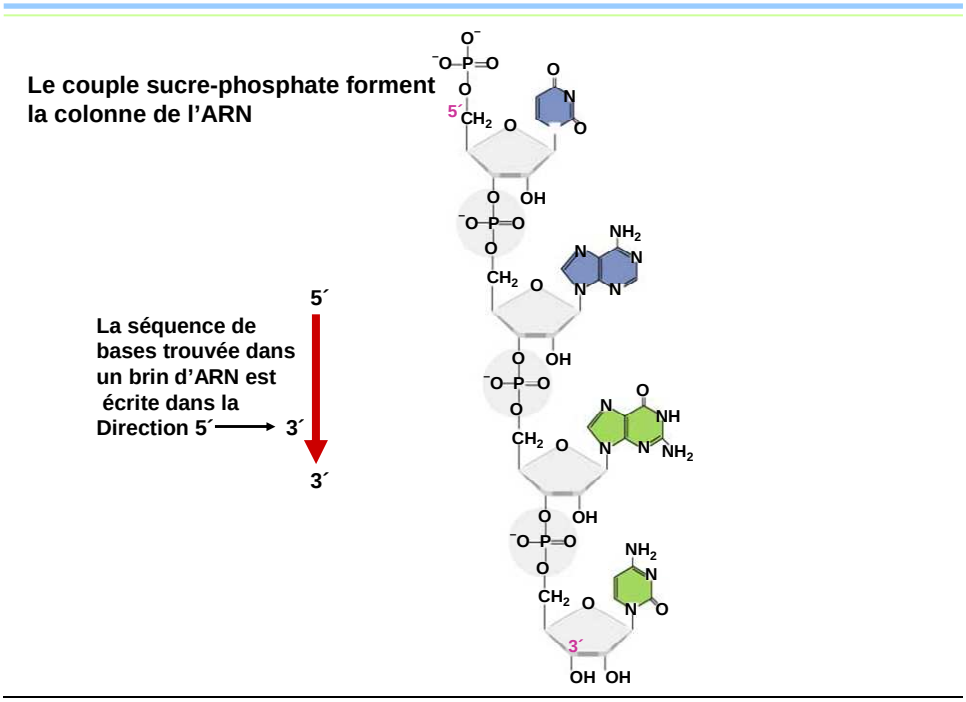


La molécule d'ADN et son sillon majeur: interaction avec les protéines

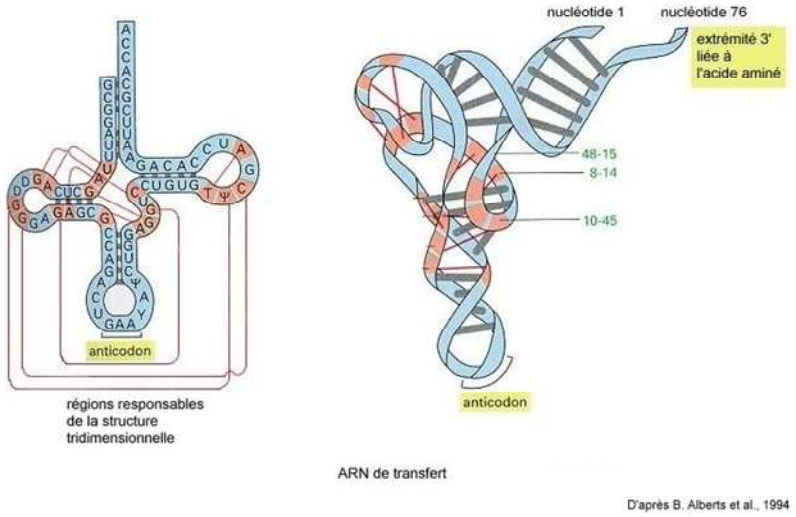
D'après B. Alberts et al., 1994

Les Acides ribonucleotides (ARN):
Structure Primaire: UN seul brin de ribonucléotides liés par des liaisons phosphodiesteres.
Structure Secondaire: Des liaisons hydrogènes peuvent se former a l'intérieur créant des tiges-boucles, "stem-loop hairpins".





ARN de transfert (ARNt)
Structure en feuillet de trèfle typique



Les propriétés des nucléotides

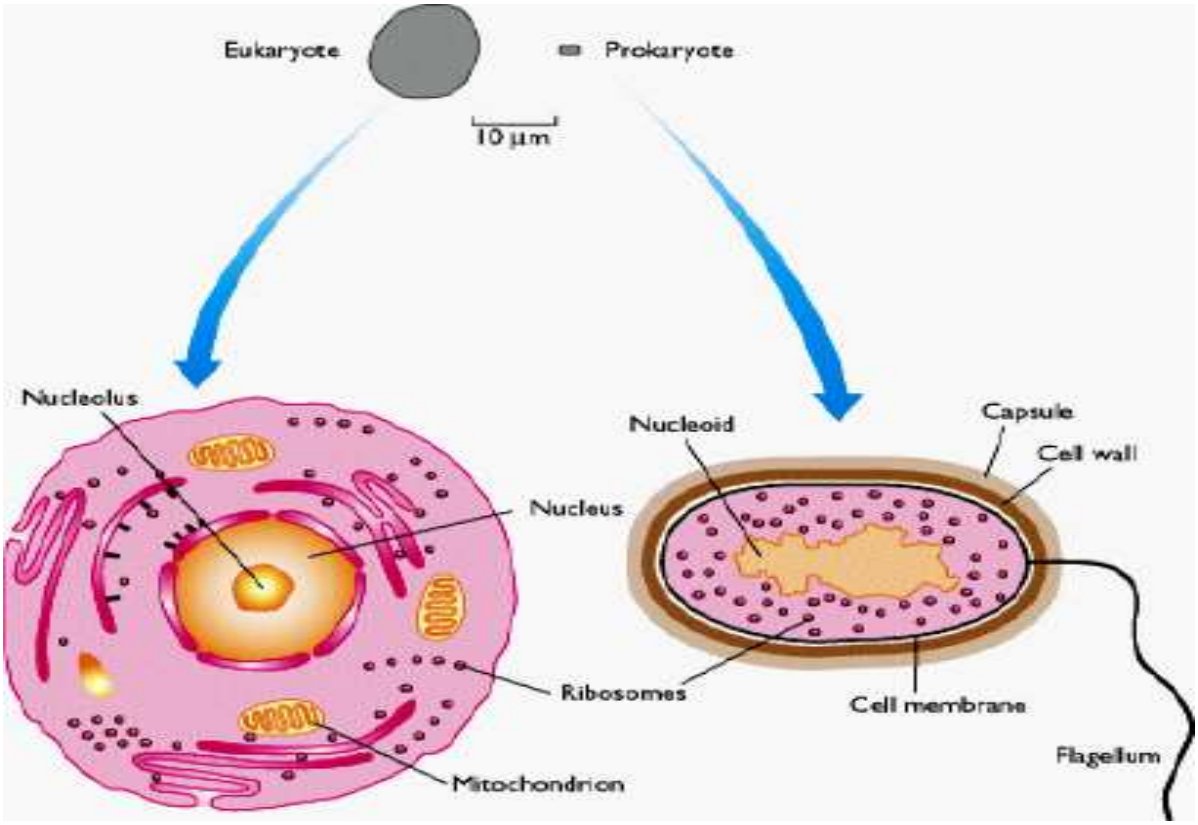
- ATP : transferts d'énergie des réactions cellulaires, le phosphore ajouté grâce à l'énergie fourni par oxydation des substances alimentaires, c'est aussi un transporteur (H^+ ou résidus glucidiques).
- AMP cyclique: c'est le messager universel des cellules et contrôle la vitesse d'un grand nombre de réactions intracellulaires.

Rôles des acides nucléiques

Ils interviennent dans la conservation de l'information héréditaire du vivant (ADN) et l'expression de cette information (ARNm, ARNr et ARNt).

Chap. IV: Organisation générale de la cellule

La cellule est le module de base de toutes les formes vivantes. Le développement de la microscopie électronique a permis de distinguer entre 2 organisations cellulaires: Les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes.



Toutes les cellules (Procaryotes ou Eucaryotes) sont similaires sur le plan organisationnel général:

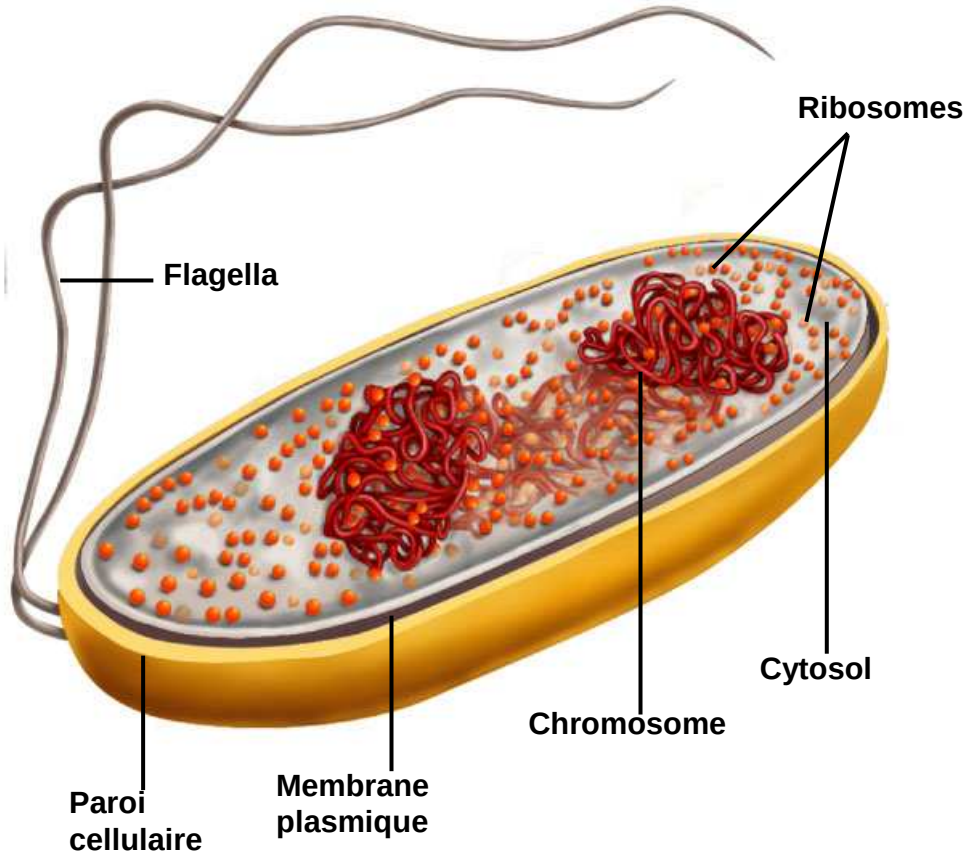
- Entourées de Membrane cellulaire
- Remplis d'un cytoplasme liquide
- Information génétique dans les chromosomes.

I. Les cellules procaryotes

Ce sont des organismes les plus primitives comprenant les bactéries et les algues bleu-verts. Les procaryotes (du Grec "Karion" = noyau) ne possèdent pas d'enveloppe autour du noyau et contiennent un filament d'ADN ou nucléoïde, replié sur lui même et qui est en contact direct avec le cytosol.

Les procaryotes sont des organismes unicellulaires de petites tailles (1 à 10µm), ils sont entourés d'une paroi de 8 à 200 nm d'épaisseur dont la complexité varie avec le type de bactérie. Chez certaines bactéries, une capsule recouvre la paroi. A l'intérieur de la cellule, on trouve un cytosol dépourvu de cytosquelette et limité par la membrane plasmique, qui renferme des ribosomes, des inclusions cytoplasmiques et un mésosome. Le mésosome est une invagination de la membrane plasmique attaché au nucléoïde et qui intervient dans la respiration de la bactérie.

Chez les procaryotes la division cellulaire est directe et se fait par bipartition.



Caractéristiques de a cellule procaryote:

Petite taille et structure simple: le plus souvent, pas de réseau de membranes internes ni de vrai cytosquelette. La cellule se présente comme, du cytoplasme délimité par une ou deux membranes renforcées d'une paroi complexe, où peuvent s'ancrer des flagelles et des pili.

Dans le cytoplasme, présence de nombreux ribosomes et d'une masse plus claire, le nucléoïde qui contient l'ADN. Le nucléoïde n'est pas un noyau car il n'est pas délimité par une membrane.

La production d'énergie n'est pas compartimentée, elle se produit au niveau de la membrane plasmique.

Le matériel génétique n'est pas entouré de membrane nucléaire. Il y a couplage entre transcription et traduction.

Absence de processus d'endocytose.

Leur division est simple avec duplication du matériel génétique et séparation des cellules filles.

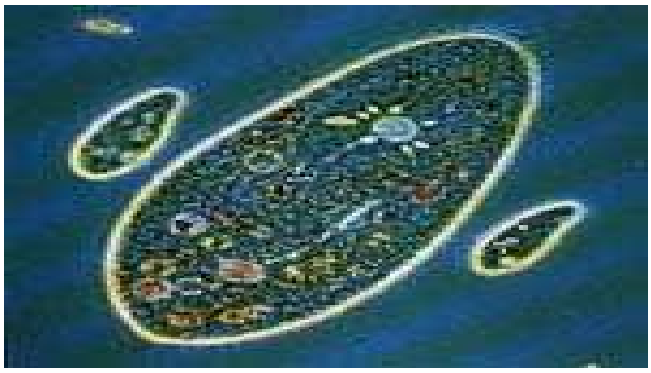
Présence de plusieurs chromosomes, circulaires et/ou linéaires.

Les génomes sont compacts avec peu d'introns ou de séquences répétées.
Les gènes sont regroupés en opérons.

Absence de stérols dans les membranes de la plupart de ces organismes.

II. Les cellules eucaryotes

Elles comprennent l'ensemble des cellules animales, végétales et certaines algues et champignons. Les Eucaryotes présentent un vrai noyau limité par une double membrane ou enveloppe qui contient un organite sphérique, le *nucléole*. La cellule est limitée par la membrane plasmique, qui isole les constituants intracellulaires ou protoplasme. L'enveloppe nucléaire sépare le nucléoplasme du noyau des organites de l'hyaloplasme tel que: le réticulum endoplasmique, l'appareil de golgi, les mitochondries, les lysosomes et les chloroplastes (spécifiques des végétaux). On y trouve aussi des ribosomes, site d'assemblage des protéines et les centrioles qui sont des corpuscules intervenant lors de la mitose. Le noyau contient la chromatine qui pendant la division cellulaire ou mitose, se condense pour donner les chromosomes. Il s'agit d'une division indirecte. De plus, les organismes multicellulaires se reproduisent sexuellement par la formation des gamètes, se développent à partir d'un zygote diploïde et présentent une différenciation tissulaire importante.



Une Paramécie (Ciliés) (x 250)

Caractéristiques des eucaryotes:

Cellules soit nues soit entourées d'une paroi de structure variable, présentent une taille souvent importante et une structure complexe avec un cytosquelette vrai et un système de membranes internes délimitant de nombreuses organelles.

Le cytosquelette renforce la cellule et permet les mouvement internes de matériaux ainsi que les déplacements fondamentaux de la cellule.

Il y a les organelles (ou organite) qui assurent des fonctions spécifiques.

Chez de nombreux eucaryotes on note la présence de plastes assurant la photosynthèse.

Il y a compartimentation de la production d'énergie (mitochondries et chloroplastes) et des réactions enzymatiques (entre cytosol, lysosome, etc.) permettant un stockage plus efficace.

Il y a un découplage entre transcription et traduction.

Présence d'un noyau contenant la plus grosse partie du matériel génétique.

Les génomes sont souvent non compacts avec la présence de nombreux introns, de séquences répétées. Les gènes ne sont pas regroupés en opérons et les messagers polycistroniques sont rares.

Ces cellules ont la possibilité de faire des endocytoses et donc d'ingérer des particules solides de grande taille.

Ils possèdent tous des stérols dans leurs membranes.

Caractéristique	Procaryote	Eucaryote
Noyau	Absent	Présent
Diamètre moyen	Environ 1 micromètre	10 -100 micromètres
Cytosquelette	Absent	Présent (chez les cellules sans paroi)
Organites	Absent	Présents (mitochondries et chloroplastes ont une génome propre)
Taille du génome (en paires de base)	1×10^6 à 5×10^6	1.5×10^7 à 5×10^9
Chromosomes	Généralement une seule molécule circulaire	Plusieurs molécules linéaires

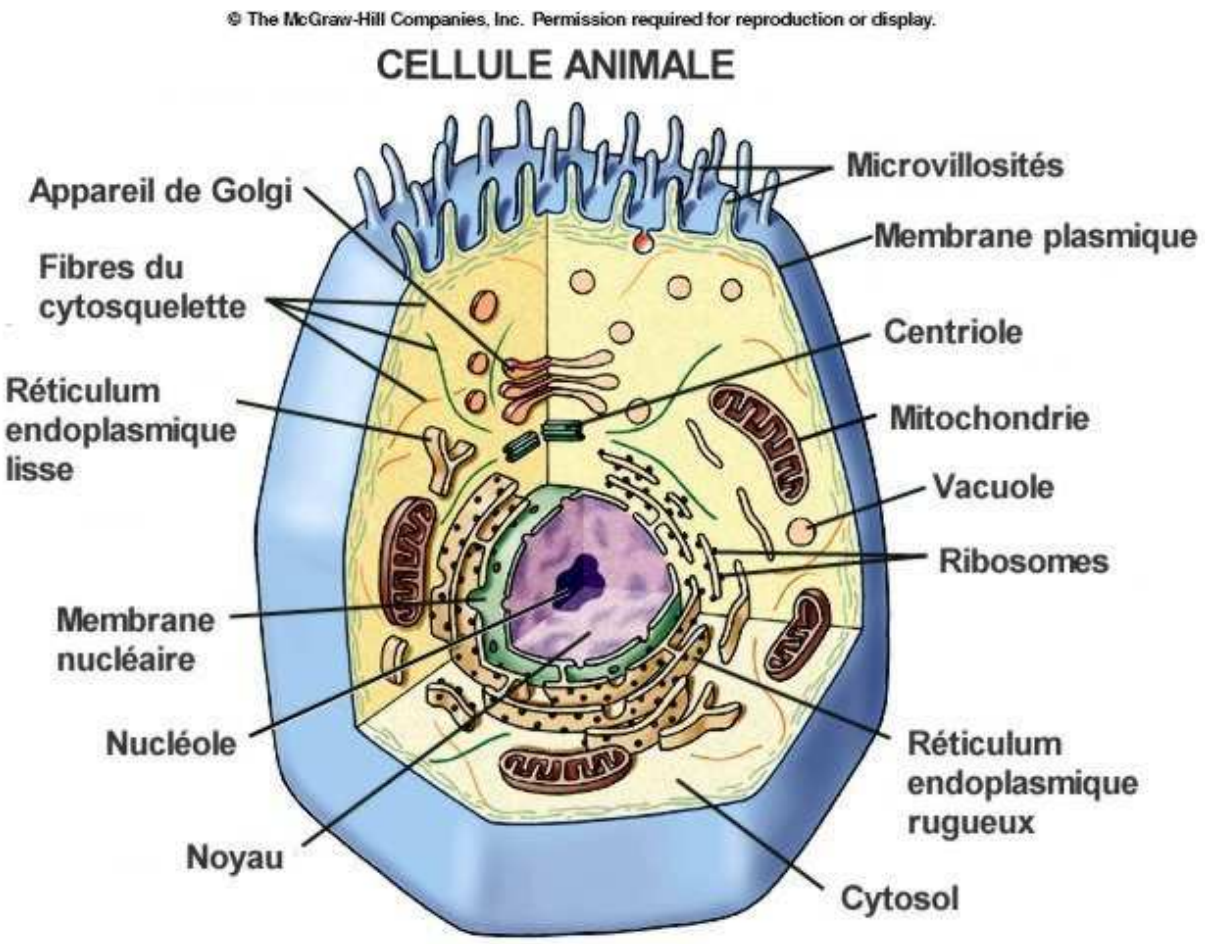
Comparaison des cellules procaryotes et eucaryotes

Comparaison	*Procaryote*	*Eucaryote*
Taille	1 à 10 µm	10 à 100 µm
Organismes	Eubactéries Archéobactéries	Champignons Plantes Animaux
Forme d'organisation	Unicellulaire	Uni ou pluricellulaire
Organites, compartimentation cellulaire	Absent	Présent, complexe, spécialisé
ADN	Petit, circulaire, sans introns	Grand, dans le noyau cellulaire, nombreux introns
ARN : synthèse et maturation	Simple : dans le cytoplasme	Complexe : dans le noyau cellulaire
Protéines : synthèse et maturation	Simple : couplée à la synthèse de l'ARN	Complexe : dans le cytoplasme et le réticulum endoplasmique rugueux
Métabolisme	Anaérobie ou aérobie Grande capacité d'adaptation	Surtout aérobie
Endo/exocytose	Non	oui

III. Les points de différences entre les cellules animales et végétales

1. La cellule animale

- Absence de paroi rigide.
- L'appareil mitotique comprend des centrioles et il y a constriction de la cellule lors de la mitose.
- Absence de chloroplastes.
- Capacité d'ingérer des particules qu'elle digère par la suite.
- Mobilité des cellules.



2. La cellule végétale

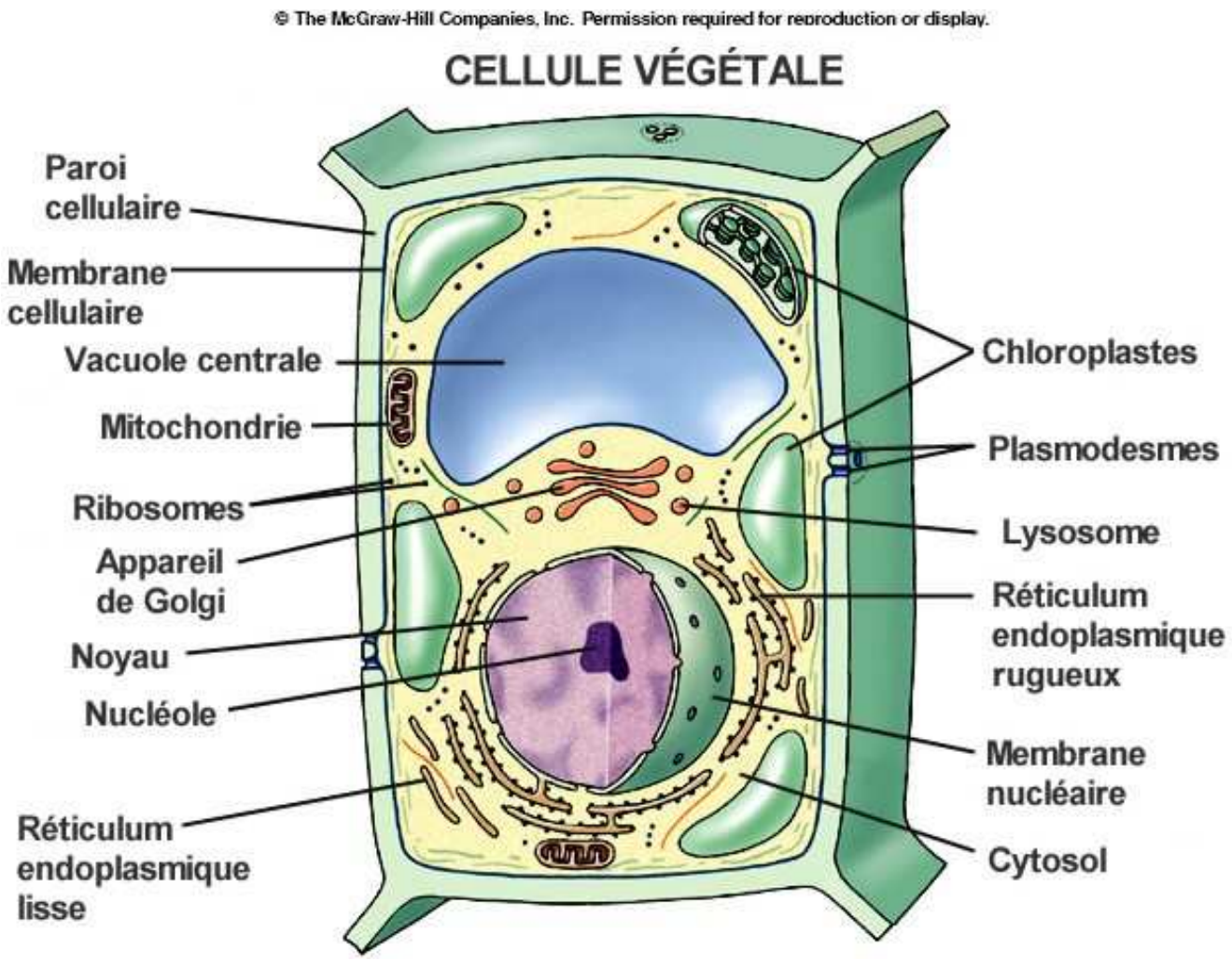
- Présence d'une paroi de polysaccharides.
- Présence de plusieurs vacuoles dans le cytoplasme.
- Absence de centrioles et division cellulaire par édification d'un cloison qui sépare les 2 cellules filles.
- Présence de chloroplastes qui permettent de convertir de l'énergie lumineuse en énergie chimique.

IV. Variations morphologiques

1. Variation de forme

Chez un organisme multicellulaire, la forme et la structure des cellules sont variables, et dépendent surtout des fonctions spécifiques qu'elles ont à jouer dans les différents tissus et organes:

- Les amibes et les leucocytes modifient souvent leur forme lors de la digestion ou le mouvement.
- D'autres cellules ont une forme typique: Les hématies (forme lenticulaire), les spermatozoïdes (Cellules allongées et flagellées).
- Les cellules hautement spécialisées ont une forme adaptée à leur fonction: les neurones pourvus d'un long prolongement axonal.



La forme des cellules peut résulter aussi de l'effet d'autres facteurs tel que les actions mécaniques exercées par les cellules voisines ou la rigidité de la membrane plasmique.
Exemple: Les leucocytes restent sphériques dans le sang circulant, mais lorsqu'elles passent dans le milieu extravasculaire, émettent des pseudopodes et épousent des formes irrégulières (mouvement amiboïde).

2. Taille cellulaire

La taille des divers types de cellules varie largement: il y a des cellules visibles à l'oeil nu tel que l'ovule de poule (3 cm) ou d'autruche (7,5 cm), mais ce sont des exceptions, car la grande majorité des cellules ne mesurent que quelques microns de diamètre.(10^{-3} mm).

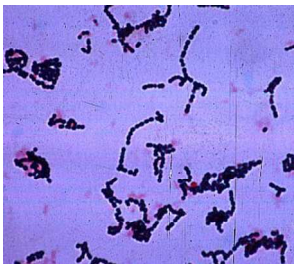
Les plus petites cellules animales ont un diamètre de 4µm. Dans l'espèce humaine, les cellules globulaires : 10 à 30 µm, les leucocytes: 5 µm, les gamètes femelles: 120 à 150 µm et les cellules musculaires lisses: 250 µm.

Mais d'une manière générale, le volume d'un type particulier de cellule demeure constant et est indépendant de l'organisme considéré, la différence peut être attribuée au nombre de cellules.

Taille Cellulaire

Cellules procaryotes : 1 à 10 µm

Plus petits procaryotes : ~ 0,1 à 1 µm



Bactéries d'environ 1 à 2 µm de diamètre vues au microscope optique (X1000)

Cellules eucaryotes : 10 à 100 µm

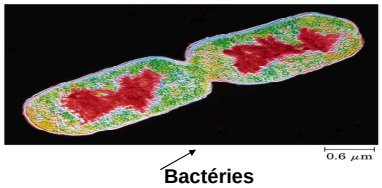
Plus petite cellule humaine = spermatozoïde (~ 3 µm)

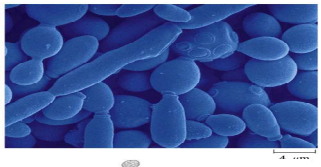
Plus grande cellule humaine = ovule (~ 100 µm)

Principales fonctions des organites des cellules eucaryotes

Organite ou élément	Fonctions dans la cellule animale	Fonctions dans la cellule végétale
Noyau	-Contient le génome -Synthèse des ARN (transcription)	
Ribosomes	Synthèse des protéines (traduction)	
Réticulum endoplasmique et appareil de Golgi	-Modifications post-traductionnelles -Adressage des protéines	
Mitochondries	Production d'ATP	
Lysosomes	Dégradation des déchets	
Vacuole		Stockage et dégradation des déchets
Peroxysomes	Dégradation des lipides. Détoxication	
Glyoxysomes		Dégradation des lipides
Chloroplastes		Transformation de l'énergie lumineuse en matière organique
Cytosquelette	-Forme de la cellule -Mouvements intracellulaires -Déplacements cellulaires	
Paroi		Rigidification et forme de la cellule

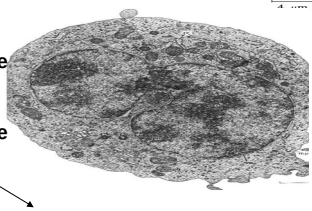
Formes de cellules





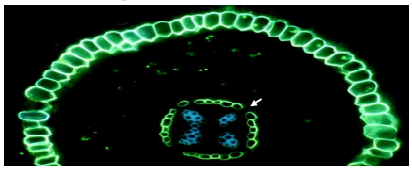
Bactéries

Pro-érythrocyte

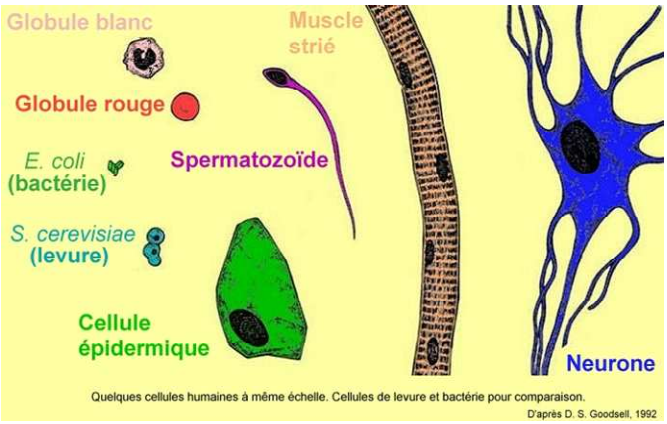


Exoderme de racine

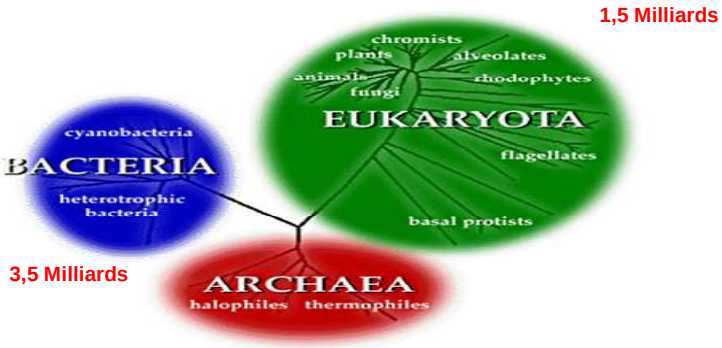
Paramécie



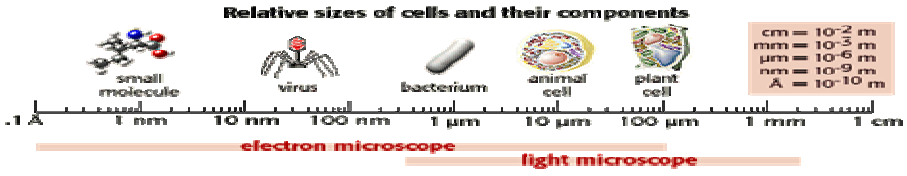
Variations morphologiques



Évolution et tailles des cellules

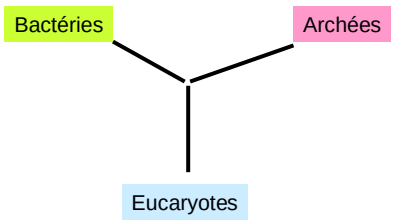


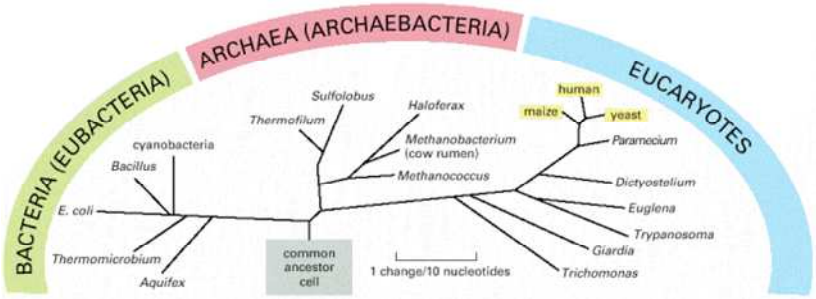
Procaryotes ⇒ Pas d'organites cellulaires, pas de noyau.



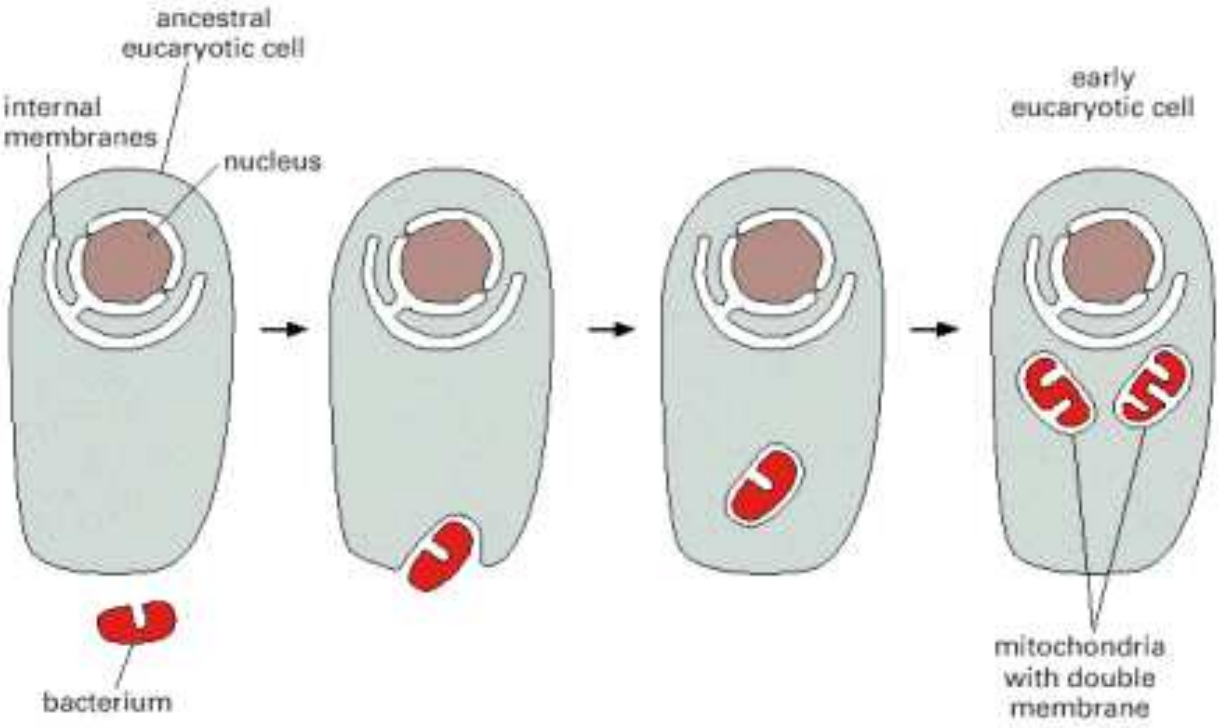
Les cellules possèdent un plan d'organisation

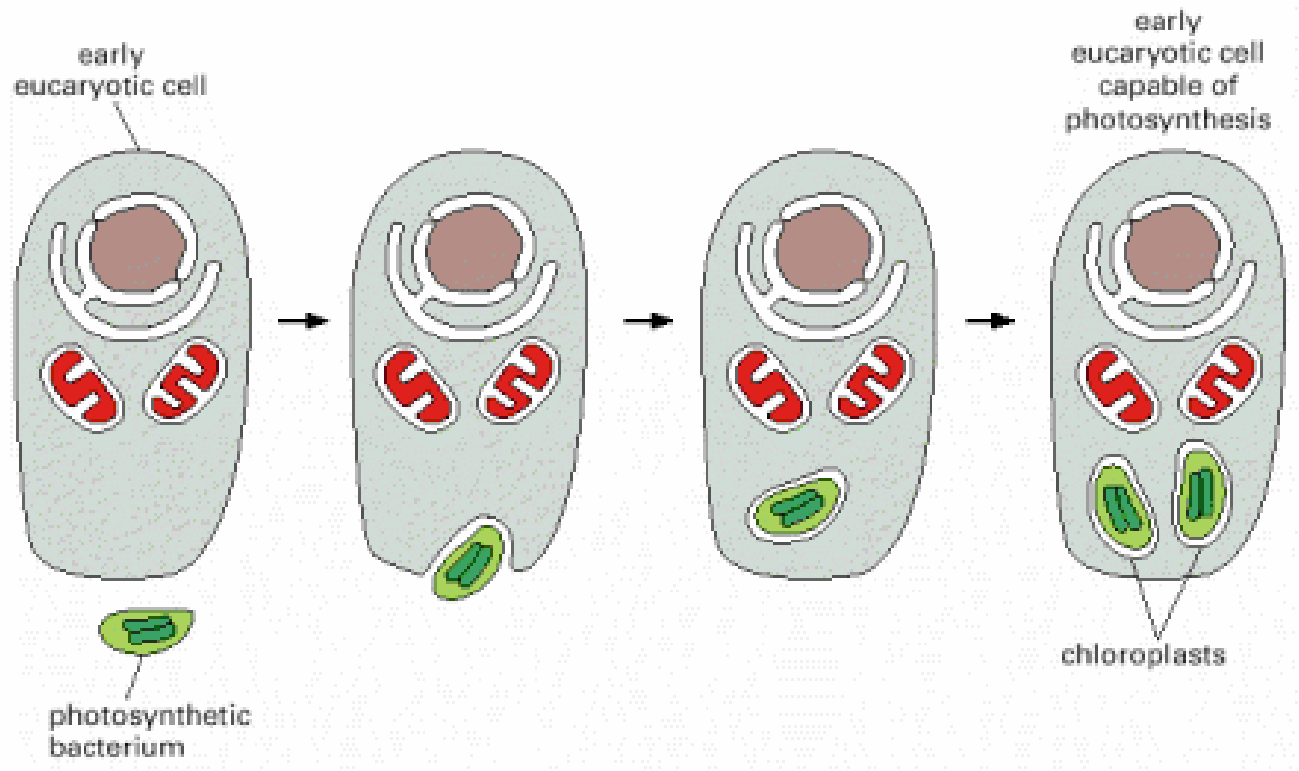
Les 3 domaines du monde vivant





Théorie sur l'origine du plan d'organisation eucaryote

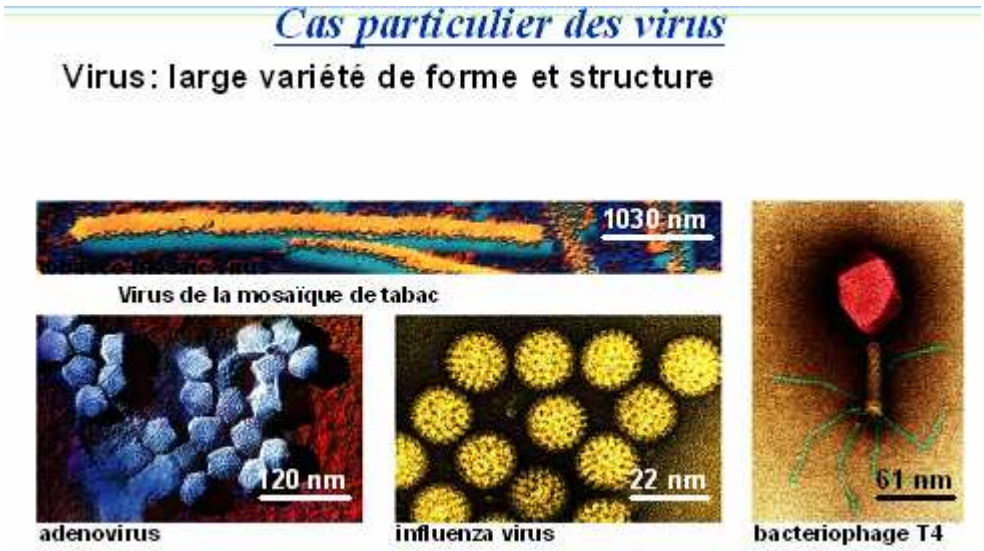




V. Etude d'un cas particulier: **Les virus**

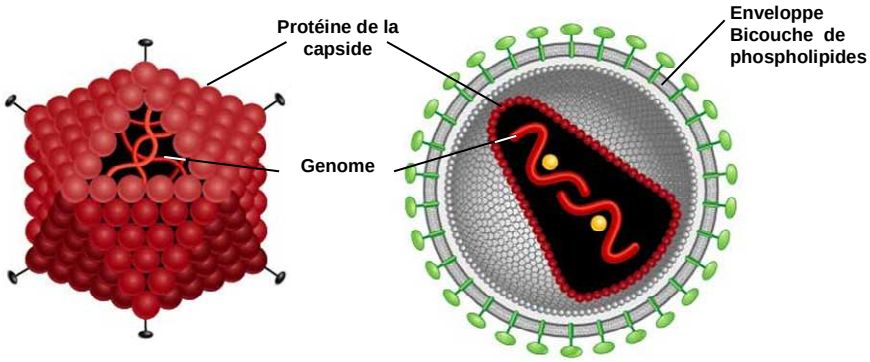
Les virus, bien qu'ils ne sont pas considérés comme des vraies cellules, présentent des propriétés communes avec les cellules eucaryotes ou procaryotes: ils présentent une taille inférieure à 0,3 µm, la microscopie électronique a mis en évidence leur structure complexe et variée. Ce sont des agents pathogènes responsables des maladies infectieuses tel que le rhume, la poliomyélite, etc...

Ce sont des parasites obligatoires, en dehors des cellules, les virus sont métaboliquement inertes. Ils ne sont constitués que par un acide nucléique (ARN ou ADN) protégé par une enveloppe protéique (capside). Ils ne possèdent qu'une information qui code pour leur reproduction, mais se servent de la cellule parasitée pour exprimer l'information qu'ils transportent.



Structures des Virus

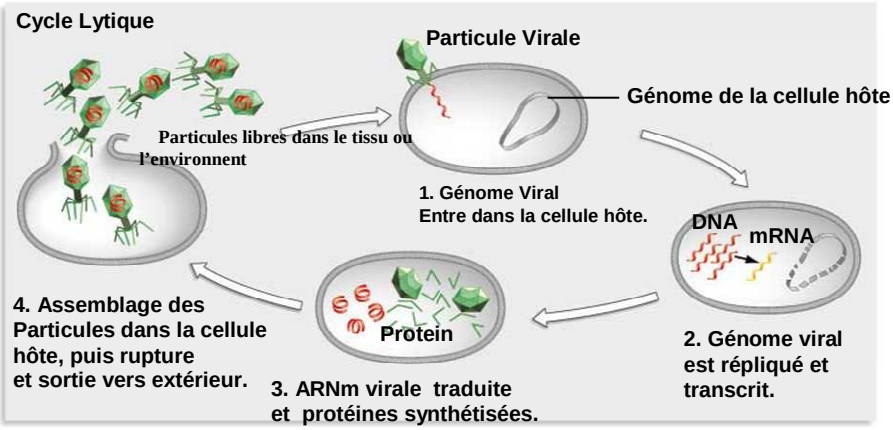
Une grande distinction à propos des virus: possèdent une enveloppe ou non



Virus non enveloppé **Virus enveloppé**

Cycle de Multiplication du Virus

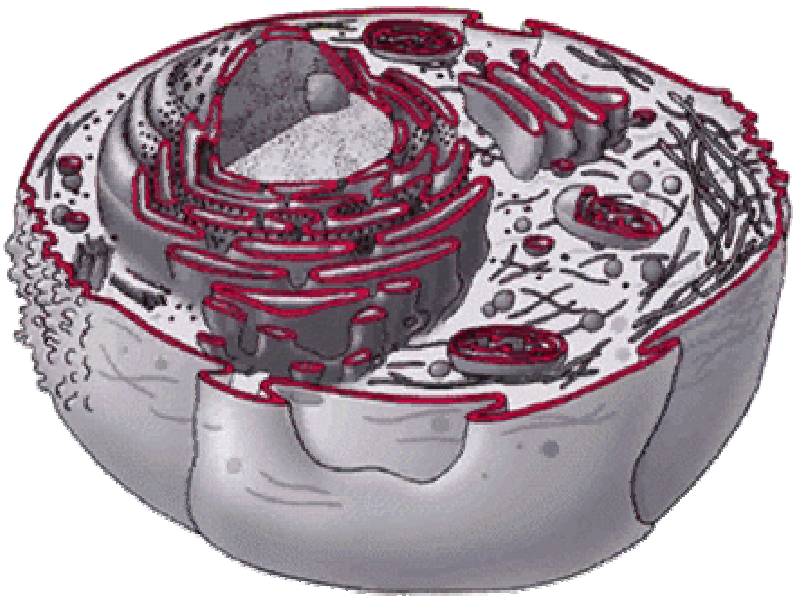
Exemple: Bactériophage



Chap. V. Membrane plasmique ou Plasmalemme

I. Définition

Le plasmalemme fait partie des membranes biologiques. Ils sont la base le l'organisation spatiale et sont des structures rapidement changeantes. La membrane est une entité structurale qui enveloppe et sépare le protoplasme du milieu extérieur, tout en assurant le contact entre ses éléments. Le rôle de la membrane est multiple: protection, adhésivité, réception et émission d'information, transfert sélectif et orienté de métabolites.



La membrane joue principalement les rôles suivants:

- Frontière entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule
- Contrôle les entrées et les sorties de la cellule (échanges cellulaires)
- Compartiments intérieurs de la cellule (organites membranaires)

La surface de membrane à l'intérieur de la cellule est souvent plus grande que la surface autour de la cellule.

II. Structure de la membrane plasmique

1. D'après les propriétés physico-chimiques

Avant l'isolement de la membrane plasmique, la détermination de la structure était basée sur des informations indirectes:

* La perméabilité de la membrane aux substances solubles dans les solvants lipidiques a amené **Overton** (1902) a postuler que la membrane plasmique est composée d'une couche lipidique. Plus tard en 1926, **Gorter** et **Grendel** ont montré que la teneur en lipides des globules rouges était suffisante pour donner une membrane plasmique formée d'une double couche de molécules lipidiques.

* Des mesures électriques ont confirmé ces résultats et montrent que les ions traversent difficilement la couche lipidique.

* Les mesures de tension de la surface membranaire donnent une faible tension due à la présence d'une couche protéique recouvrant les couches lipidiques.

D'après ces propriétés **Danielli** et **dawson** (1935) ont avancé l'hypothèse du *modèle lamellaire* où la membrane serait formée de 2 feuillets constitués de molécules phospholipidiques et recouverte d'un film continu de protéines. Le problème de ce modèle c'est qu'il ne saurait expliquer le passage d'eau et des substances non liposolubles.

2. Observation au microscope électronique

a. Observation des coupes minces

L'observation a montré que la membrane est formée de 3 couches qui différent par leur contraste aux électrons: on a 2 feuillets denses de 20A° d'épaisseur intercalés par un feuillet clair de 35A° d'épaisseur, cette structure a été appelé *structure trilaminaire* .

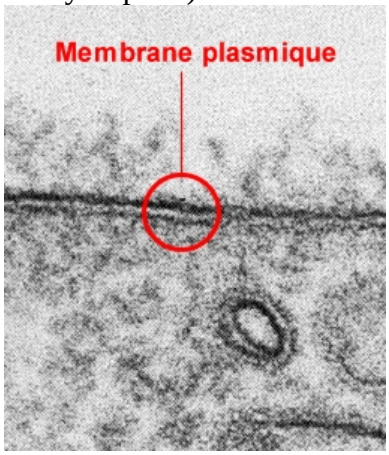
Les feuillets denses n'ont pas toujours la même épaisseur car le feuillet dense du côté extracellulaire possède un revêtement fibreux appelé le **cell coat** (50 à 100 Å).

Quel que soit l'organite considéré (membrane du réticulum endoplasmique, appareil de Golgi,..), elle présente la même structure trilaminaire. Ceci a permis à **Robertson** (1959) de proposer le modèle de *membrane unitaire.*

Cette structure trilaminaire a été interprétée d'après le modèle de **Danielli** et **dawson** avec:

La *couche claire* = Chaînes hydrocarbonées des lipides (régions hydrophobes).

Les *couches denses* = protéines (pôles hydrophile).

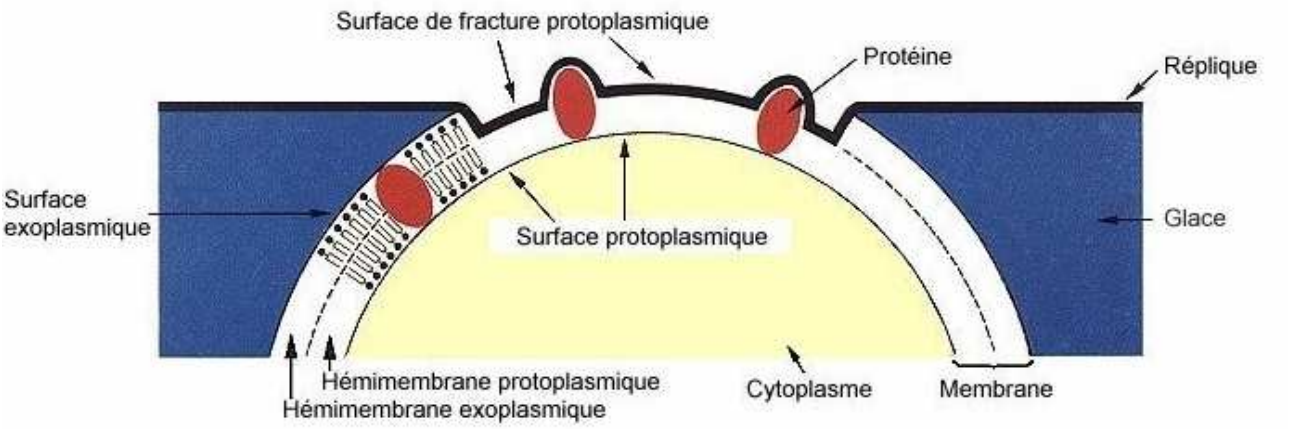


Photographie au microscope électronique d'une membrane

- **Épaisseur : 7 à 8 nm**
- **Deux feuillets visibles au microscope électronique**

b. Observation des répliques (Définitions voir Chap. II)

L'observation des répliques des membranes plasmiques par microscopie électronique à balayage a mis en évidence des particules globulaires de 50 à 80 A° de diamètre enchâssées dans la membrane. Cette membrane apparaît formée de 2 couches et non de 3 feuillets qui renferment des particules intramembranaires : *Structure particulaire.* Donc la bicouche lipidique n'est pas continue.

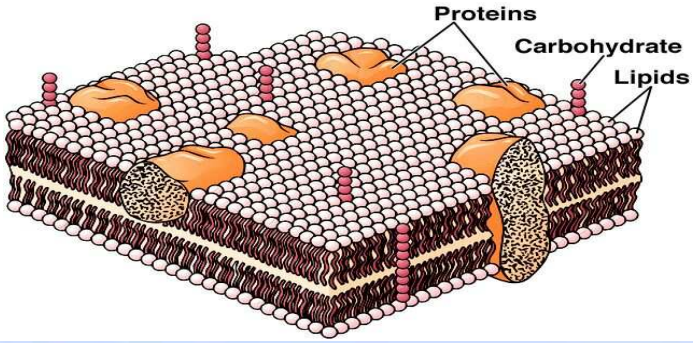


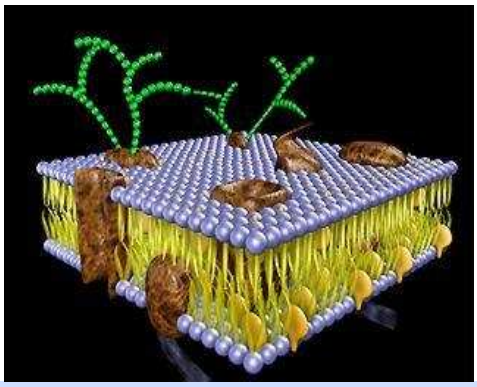
Cryofracture d'une membrane

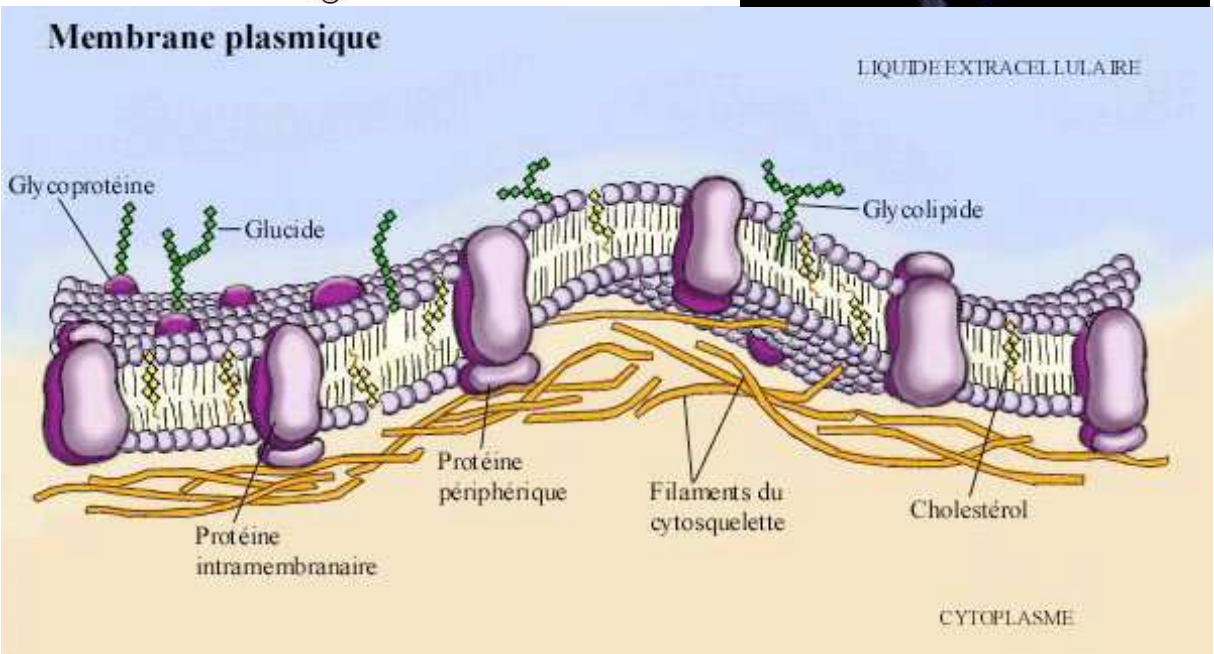
3. Composition chimique

a. Isolement de la membrane plasmique

Techniquement, l'isolement de la membrane plasmique est très difficile, dû à son interférence avec les membranes des organites. Les hématies dépourvues de noyau et d'organites cellulaires {le noyau est perdu au cours de leur maturation dans la moelle osseuse} représentent un matériel précieux pour cette étude. La membrane obtenue est appelée stroma ou fantôme des globules rouges.



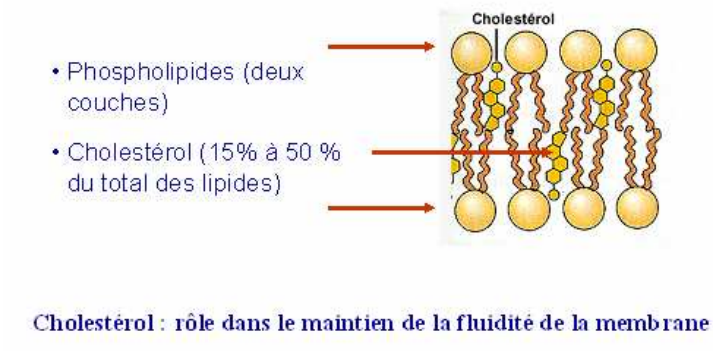




b. Analyse chimique

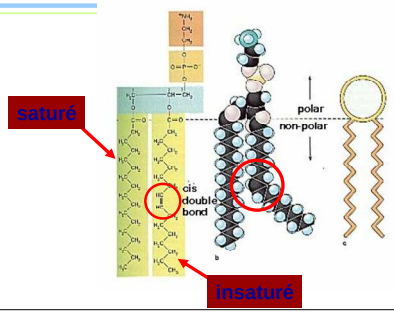
La composition chimique de la membrane plasmique des hématies est la plus connue: Protéines, 52%; Glucides, 8% et Lipides, 40%. **Les principaux lipides:** les phospholipides, 55%; cholestérol 25%, glycolipides 18% et des acides gras entièrement hydrophobes.

Les lipides

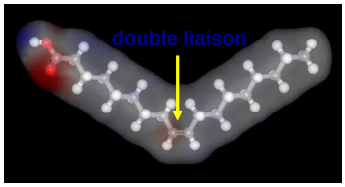


Cholestérol : rôle dans le maintien de la fluidité de la membrane

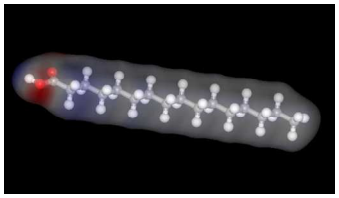
Rôle des acides gras



Les acides gras insaturés sont courbés et les saturés sont rectilignes



Acide oléique (insaturé)



Acide palmitique (saturé)

Les lipides sont en fait des **phospholipides composés**

- d'une extrémité (tête) **hydrophile polaire**
- d'une extrémité(queue) **hydrophobe ou apolaire**

Les queues hydrophobes sont des chaînes acides gras contenant de 14 à 24 atomes de carbones

Il y a quatre phospholipides majeurs dans les membranes

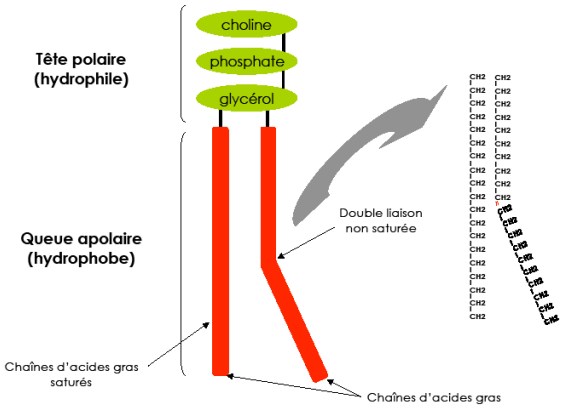
- **phosphatidylcholine**
- **phosphatidylethanolamine**
- **phosphatidylsérine**
- **sphingomyéline**

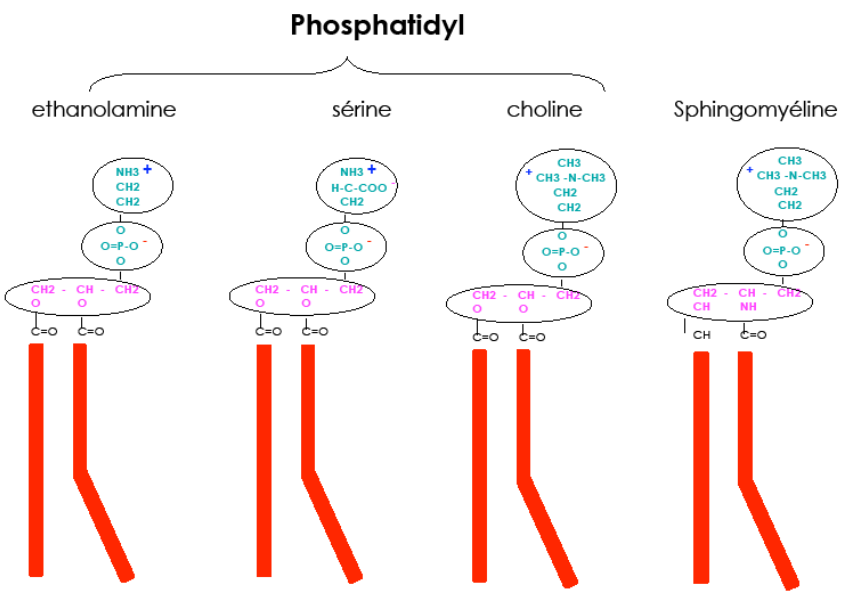
} + de 50% de la masse des lipides membranaires

Il faut y ajouter les **phosphatidylinositides (PIP2)**

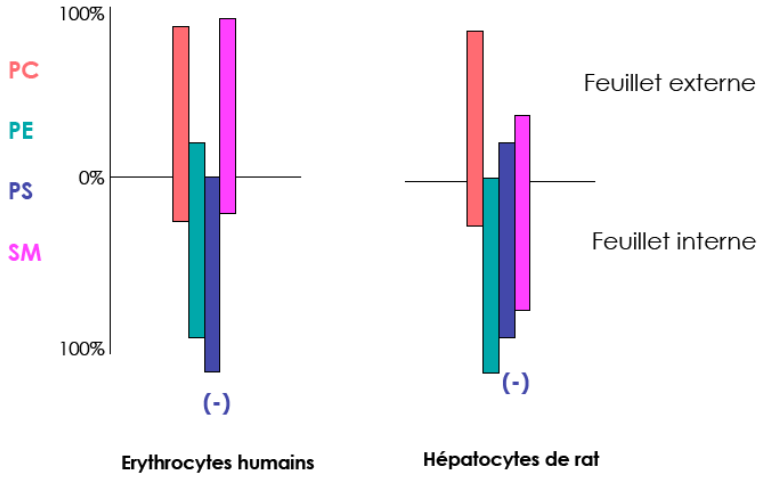
Concentration faible mais rôle essentiel dans la transduction du signal

Phosphatidylcholine (lécithine)



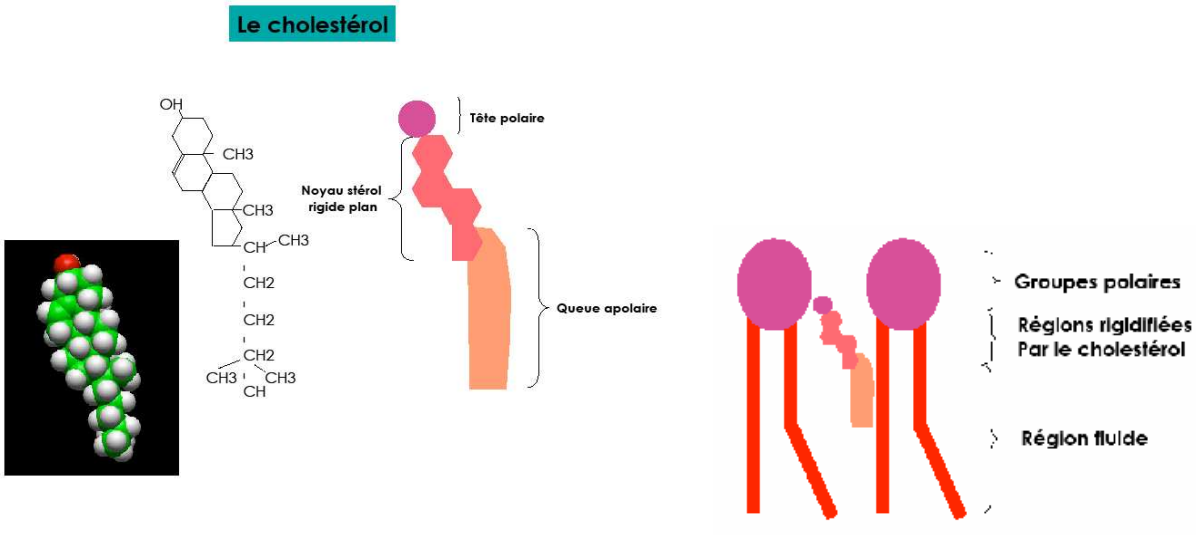


Les lipides ont une distribution asymétrique dans les feuillets membranaires

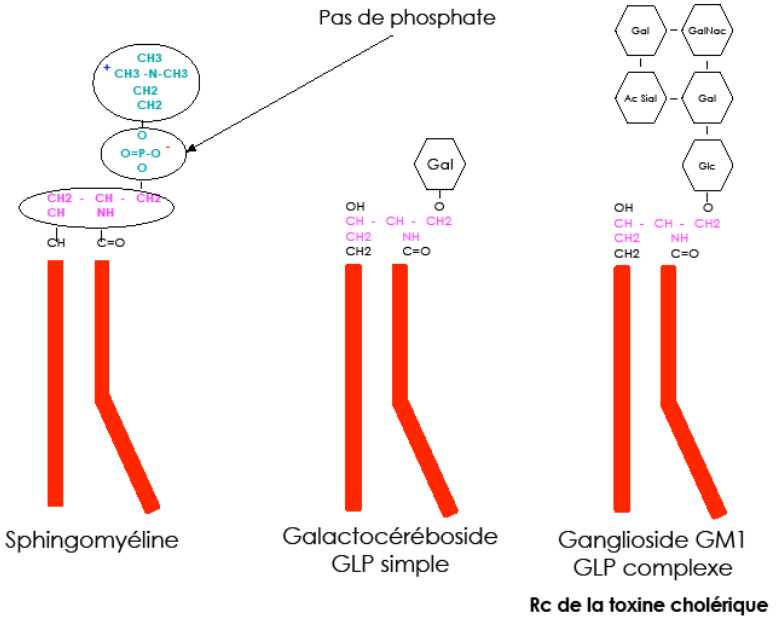


Le cholestérol

- Très forte concentration dans les cellules eucaryotes,
- Jusqu'à une molécule de cholestérol par phospholipide
- Augmente l'imperméabilité de la bicouche aux molécules hydrophiles
- Rigidifie la membrane plasmique



Les glycolipides (en relativement faible quantité)
Ressemblent aux phospholipides (GLP) dans leur composition bien qu'ils soient dépourvus de phosphate. Les GLP simples avec un unique résidu sucré (glycosyle) dans leur région polaire. Les GLP complexes contiennent plusieurs groupements sucrés.



Compositions lipidiques des différentes membranes (% du poids total des lipides membranaires)

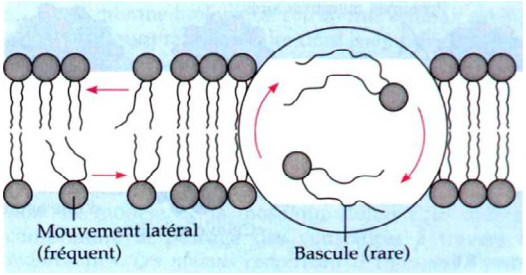
	Membrane plasmique	Mitochondrie	Réticulum endoplasmique	E. coli
Cholestérol	17	3	6	0
PDE	7	35	17	70
PDS	4	2	5	trace
PDC	24	39	40	0
GLP	7	trace	trace	0

Rq: Le cholestérol est important pour la membrane plasmique mais est absent des bactéries

Glycolipides uniquement dans les membranes plasmiques des eucaryotes

Modèle de la mosaique fluide

Les molécules sont ordonnées, mais se déplacent sans arrêt les unes par rapport aux autres.

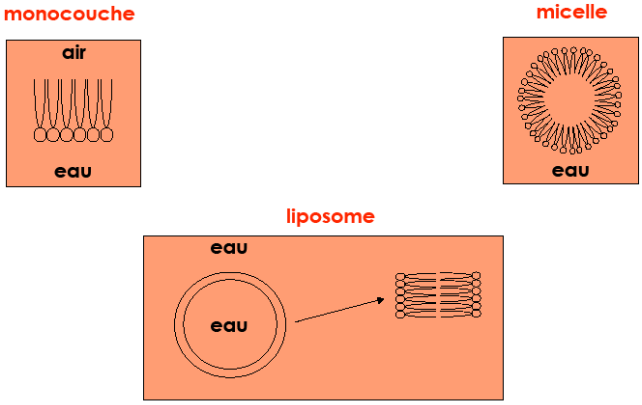


$\vec{v} \sim 2\ \mu m / s$

Un phospholipide donné change de position avec un autre ~10 millions de fois par seconde.

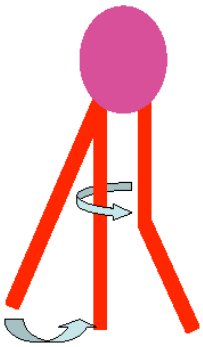
La bicouche lipidique est un fluide bidimensionnel

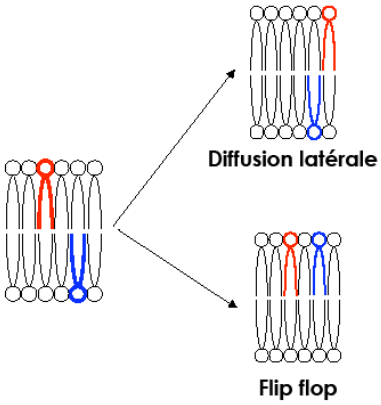
En solution aqueuse, les lipides se rassemblent en structures particulière



Les lipides sont mobiles au sein des bicouches

Mouvements locaux (10^{11}/sec)





Coefficient de diffusion latérale: 10^{-8} $cm^2.sec^{-1}$

Un lipide diffuse sur toute la longueur d'une bactérie en 2 minutes

Facteurs affectant la fluidité de la membrane

1. La température

Les bactéries et les levures ajustent la composition lipidique de leur membrane en fonction de l'environnement pour maintenir constant une certaine fluidité membranaire

2. La longueur des chaines hydrocarbonées

3. Le nombre de doubles liaisons

4. La nature des têtes polaires

5. Le contenu en cholestérol qui rigidifie la bicouche

- Les glucides: sous forme de glycolipides et glycoprotéines.

- Les protéines: avec 2 types:

*Protéines intégrées (intrinsèques): 70 % de l'ensemble, elles sont assez hétérogènes quand à leur poids moléculaires. Ces protéines peuvent être liées à des oligosaccharides pour former des glycoprotéines et sont amphiphiles.

*Protéines extrinsèques: solubles dans les solutions aqueuses, libres des lipides. Ex.: La spectrine, une protéine contractile, enlevée du stroma.

Dans le globule rouge, Le PM des polypeptides varie entre 20.000 à 240.000 et dont certains ont des activités enzymatiques: glyceraldéhyde 3P-deshydrogénase (G-3-PD); acétylcholinestérase, ATPase et protéine kinase.

Le rapport lipide/protéine varie largement entre les différentes membranes cellulaires:

- Prédominance des lipides dans la myéline (60 %).
- Prédominance des protéines dans les globules rouges.

---

4. Les protéines membranaires

Elles confèrent aux membranes leurs fonctions spécifiques

La quantité et la qualité des protéines sont très variable d'une cellule à l'autre

Gaine de myéline des oligodendrocytes qui isolent électriquement les axones contiennent moins de 25% de protéines (masse de mb)

Les mitochondries et les chloroplastes qui transduisent l'énergie ont un taux élevé de protéine (75%)

Les protéines transmembranaires sont, comme les lipides, **amphiphiles**

Les régions hydrophobes interagissent de manière **non covalente** avec les lipides membranaires.

Le plus souvent les 15-20 AA du domaine transmembranaire sont disposés en hélice α

Les protéines peuvent avoir un ou plusieurs domaines transmembranaires

Les régions hydrophiles sont exposées à l'environnement aqueux sur les deux faces des membranes.

Certaines protéines ne sont associées qu'à un seul coté de la membrane

Les protéines du cytosol sont liées par des liaisons covalentes avec **des acides gras**

Les protéines externes peuvent être liées par des liaisons covalentes avec **Glycosyl phosphatidyl inositol (ancre GPI)**

On parle alors de protéines **glypiées**

D'autres protéines sont simplement liées par des liaisons non covalentes à des protéines transmembranaires sur l'une ou l'autre

La grande majorité des protéines transmembranaires sont glycosylées (**glycoprotéines**)

Comme pour les glycolipides, les résidus **glycosyls** sont ajoutés dans la lumière du Réticulum et de l'appareil de Golgi

C'est la raison pour laquelle, les résidus glycosylés sont toujours présents sur la **surface externe de la membrane**

Introduit une asymétrie supplémentaire

Le cytoplasme est un environnement extrèmement réducteur et qui empêche ainsi la formation de liaisons disulfures intra ou inter protéiques entres les cystéines

Seule la partie extracellulaire des protéines comprend des **ponts disulfures**

Les détergents permettent de solubiliser les protéines membranaires

Les détergents sont des molécules amphiphiles qui ont largement contribué à l'analyse des membranes cellulaires

Les protéines membranaires ne peuvent être solubilisées qu'en détruisant la bicouche lipidique

C'est ce que font les détergents en s'insérant dans la bicouche puis en la déstabilisant

Certains sont des produits naturels comme le **desoxycholate de Na+** mais la plupart sont des composés de synthèse

Ionique avec tête hydrophile chargée (**SDS**, **DOC**)

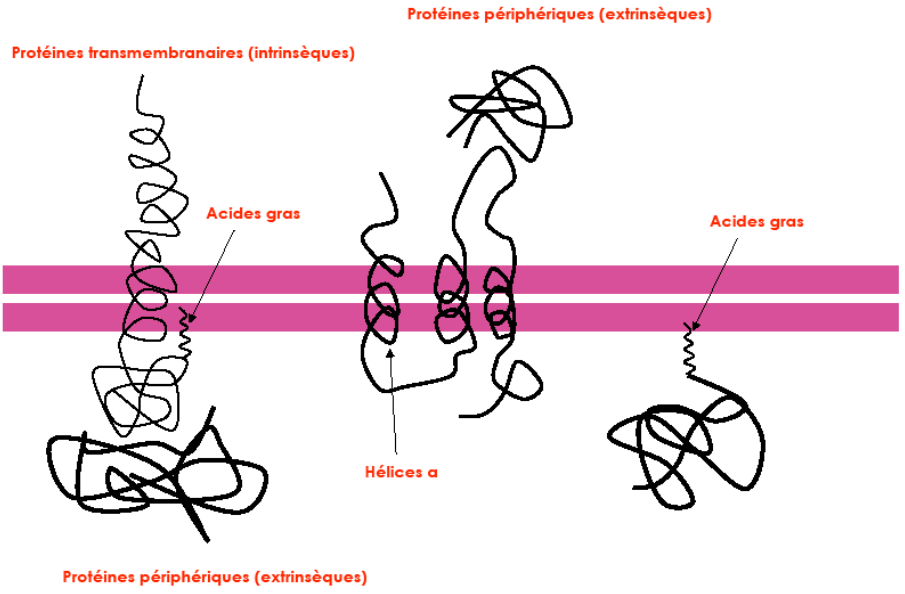
Non ionique avec tête hydrophile non chargée (**triton**)

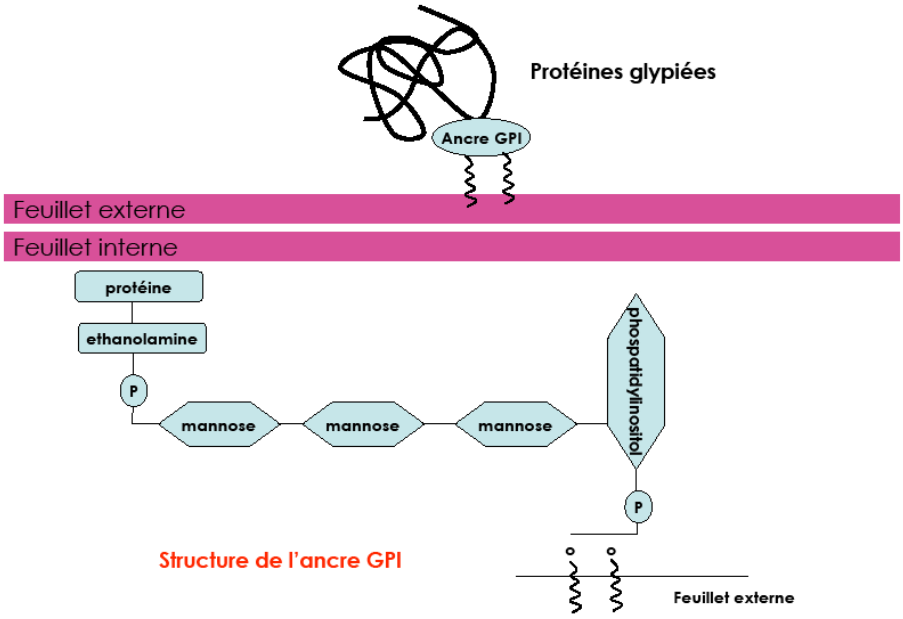
c. Architecture moléculaire

L'application des techniques biophysiques ont amené **Singer** et **Nicolson** (1972) à proposer le modèle de *mosaïque fluide* {Mosaïque: constitué d'unités de type différents; Fluide: souple et déformable} où les protéines globulaires sont insérées dans la couche bimoléculaire de phospholipides. Les membranes biologiques sont des structures fluides dans lesquelles les lipides et les protéines peuvent se déplacer à l'intérieur.

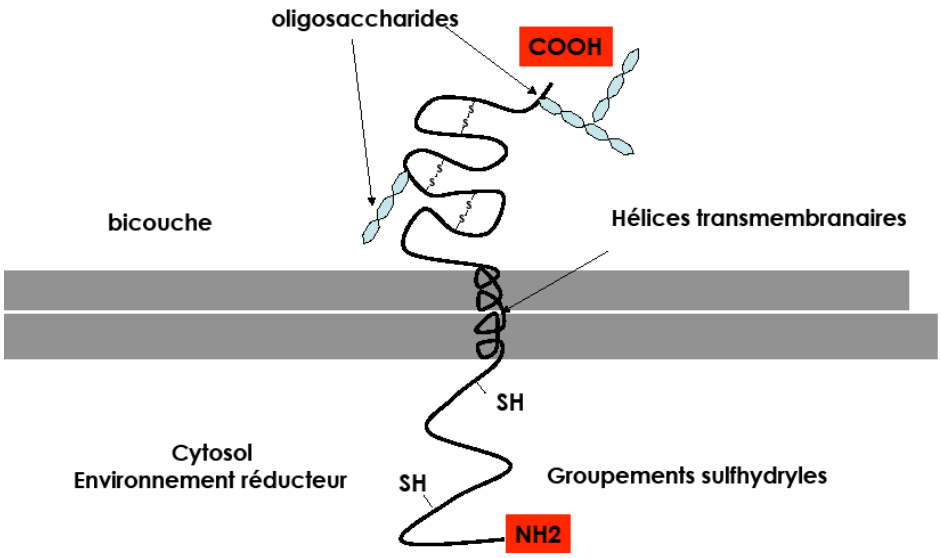
Dans ce modèle, les lipides forment une double couche assez discontinue avec des pôles hydrophiles et hydrophobes (amphiphiles). Pour les protéines intrinsèques qui sont amphipathiques, elles sont intégrées dans la bicouche lipidique par leurs groupes apolaires alors que les groupes polaires sont dirigés vers la phase aqueuse. Par contre, les protéines hydrophiles sont de part et d'autre de la bicouche lipidique.

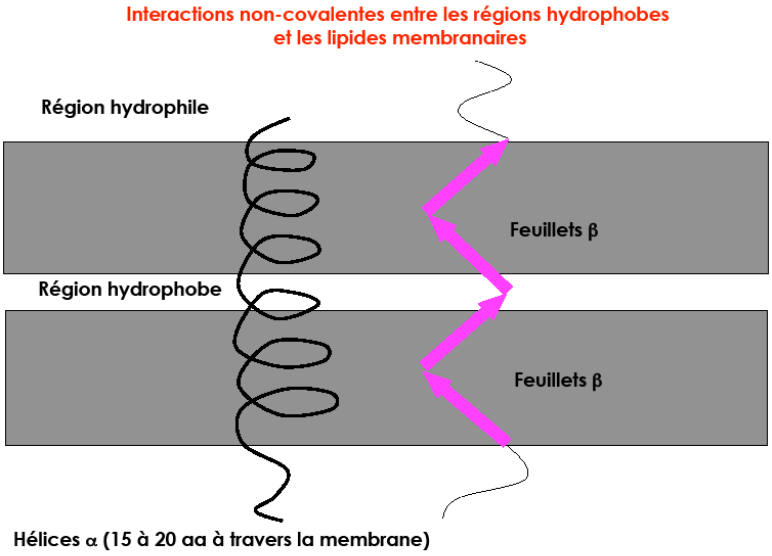
La fluidité de la membrane dans ce modèle dépend du degré de saturation des chaînes hydrocarbonée et de la T° ambiante (le point de fusion est supérieur à la T° de l'organisme).





Structure de l'ancre GPI





Les détergents ioniques sont de forts détergents qui détruisent les liaisons non covalentes et dénaturent les protéines cad les « débobinent » puis se lient aux régions hydrophobes

Les protéines dénaturées ne sont plus fonctionelles mais peuvent être analysées par gel de polyacrylamide car elles migrent selon leur masse moléculaire

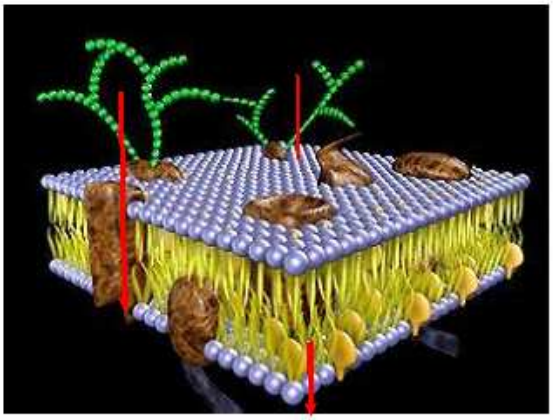
Les détergents non ioniques (triton X100) sont des détergents doux

Ils solubilisent les protéines mais sans les dénaturer

Cette solubilisation douce est la première étape utilisée pour la purification des protéines membranaires puis ultérieurement leur analyse fonctionnelle

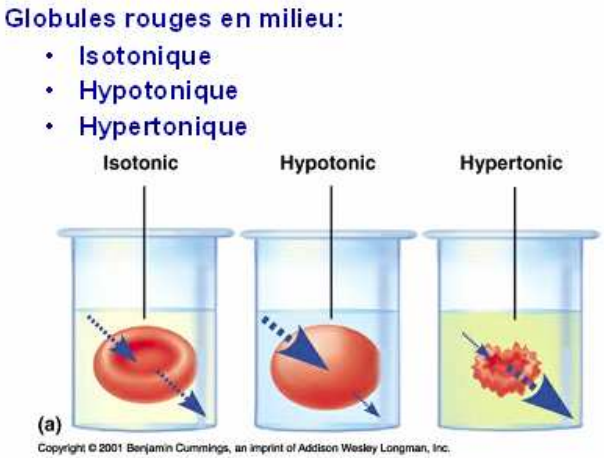
III. Rôles physiologiques de la membrane plasmique

- Transport
- Enzymes
- Récepteurs
- Adhérence entre les cellules
- Reconnaissance par le système immunitaire

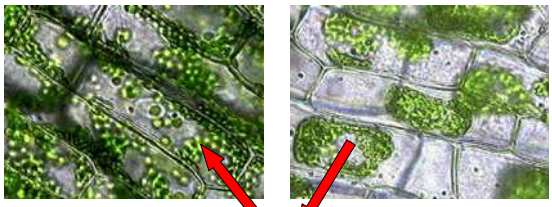


1. Perméabilité à l'eau

Les échanges d'eau à travers la membrane plasmique ont été prouvés par l'expérience suivante:
Des hématies ont été placées dans des solutions à différentes concentrations de NaCl, Les variations du volume cellulaire ont été constatées. Ces variations sont la conséquence de la différence de concentration de part et d'autre de la membrane plasmique. On constate que l'eau passe du milieu le moins concentré (hypotonique ou hypoosmotique) vers le milieu le plus concentré (hypertonique ou hyperosmotique): c'est la loi de l'**osmose**.



Cellules d 'élodée en milieu hypotonique et hypertonique



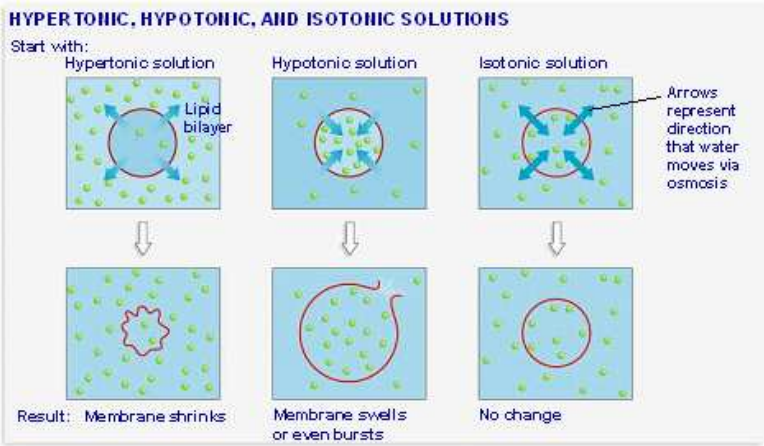
Milieu hypotonique
État de **turgescence**

EAU

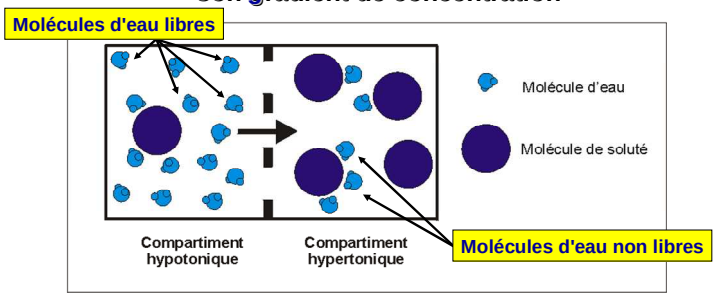
Milieu hypertonique
État de **plasmolyse**

Que se produit-il si on plonge des fruits dans du sucre?

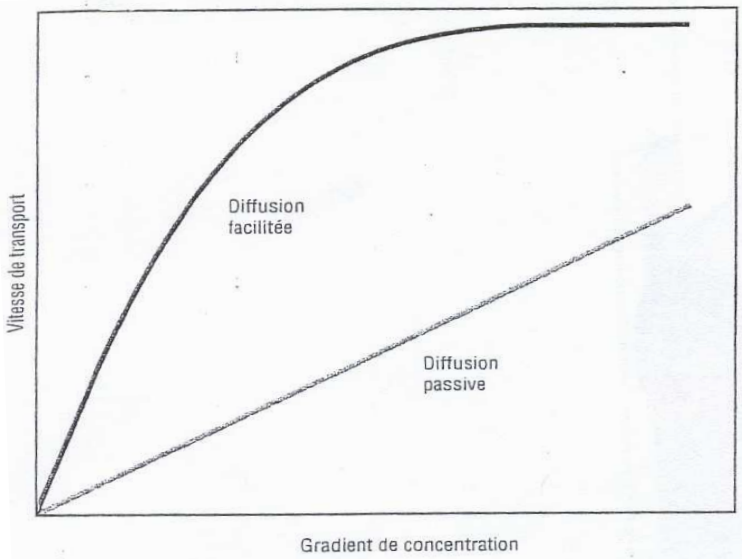
Solutions hypertonique, hypotonique et isotonique



L'osmose, c 'est l'eau qui se déplace en suivant son gradient de concentration



Les molécules de soluté diminuent le nombre de molécules d'eau qui sont libres de se déplacer. L'eau se déplace de là où les molécules libres sont abondantes à là où il y en a moins.

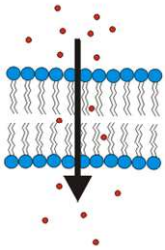


La diffusion passive et facilitée. La vitesse de diffusion dépend du radient de concentration du soluté. Notez l'effet de saturation ou plateau. aux aleurs élevées du gradient de concentration lors de la diffusion facilitée.

Perméabilité sélective

La double couche de lipides est perméable

- **Aux molécules très petites (H_2O, CO_2, O_2)**
- **Aux molécules liposolubles (hydrophobes, non polaires)**



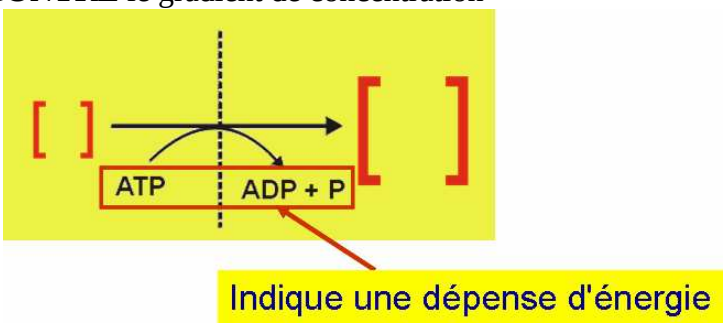
La double couche de lipides est imperméable:

- **Aux grosses molécules et à la plupart des molécules polaires**
- **Aux ions (K^+, Cl^-, Na^+)**

Transport passif: Diffusion simple; Diffusion facilitée et Osmose

Transport actif: Ressemble à la diffusion facilitée (nécessite un **transporteur**) **MAIS**

- Besoin d'une source d'énergie (ATP)
- Peut se faire **CONTRE** le gradient de concentration



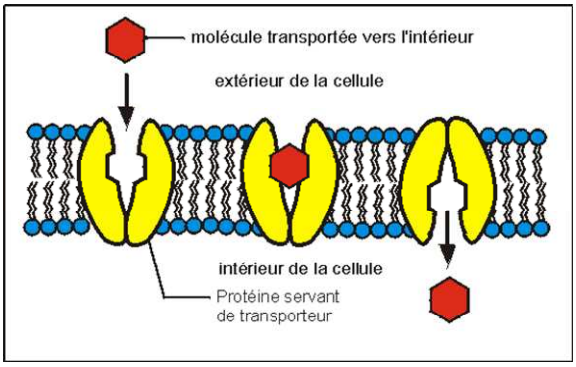
2. Perméabilité aux solutés (substances dissoutes)
La membrane plasmique n'est pas strictement hémiperméable, mais elle permet le passage d'autres substances.
a. Substances non électrolytes
A l'opposé de l'eau, les substances non électrolytes traversent la membrane plasmique selon le gradient de concentration, du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré. Ce passage se fait par simple diffusion et ne nécessite pas d'énergie.
La **simple diffusion** est liée deux facteurs:

- **Liposolubilité**: La présence des lipides dans la membrane facilite le passage des substances liposolubles (ex: Éther et cétone) à travers la membrane plasmique à l'opposé des substances hydrosolubles.
- **Taille des molécules**: Les molécules de faible poids moléculaire traversent facilement la membrane plasmique, alors que les grosses molécules ont souvent recours aux transporteurs.

Certaines substances, non liposolubles et à poids moléculaire élevé, traversent la membrane vers le cytoplasme par un processus plus complexe appelé **diffusion facilitée**. En effet, si l'on mesure la cinétique de pénétration du glucose dans les hématies on obtient une courbe parabolique. L'analyse de la courbe montre qu'à faible concentration de glucose du milieu extracellulaire, le flux à travers la membrane plasmique des hématies est très important, cependant au delà d'une certaine concentration de glucose, on remarque que la vitesse de pénétration se stabilise et forme un plateau même si sa concentration continue d'augmenter.

Dans ce type de transport passif particulier, le glucose a besoins, pour traverser la membrane, d'un constituant membranaire qui jouerait le rôle de transporteur spécifique. La quantité de ce transporteur devient un facteur *limitant* la pénétration du glucose à forte concentration. Celui-ci est un enzyme appelé **perméase,** qui réalise une liaison avec le glucose.

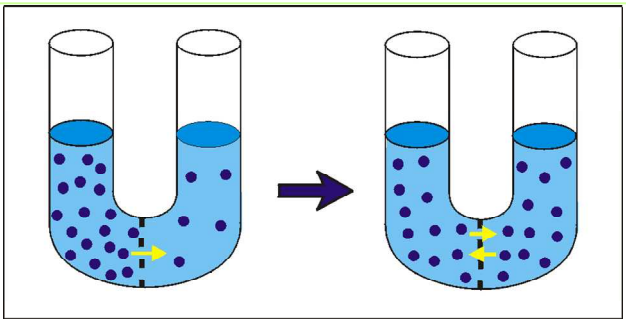
Diffusion facilitée



La diffusion se fait par l'intermédiaire d'une protéine de la membrane.

N .B.

- **Pas de dépense d 'énergie**
- **Se fait selon le gradient de concentration**



Une substance diffuse suivant son ***gradient de concentration*** : de la zone la plus concentrée à la zone qui l 'est moins.

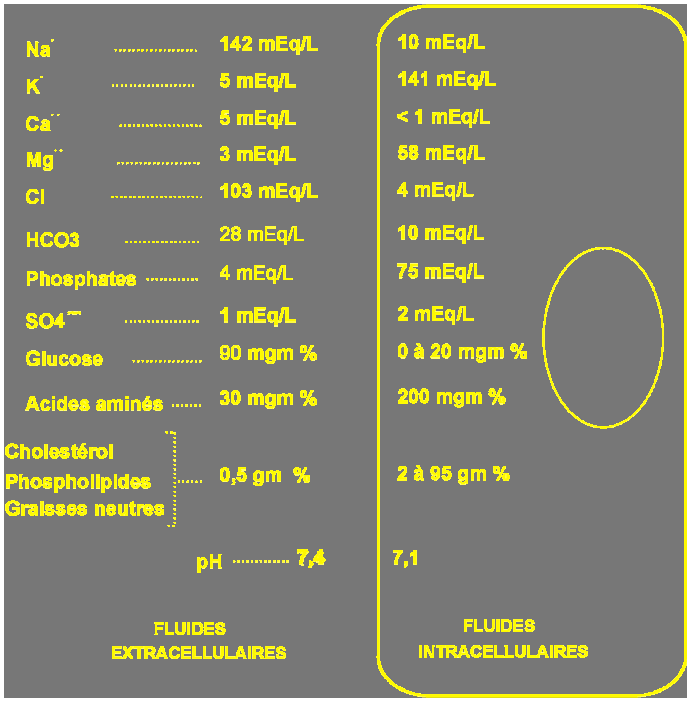
Gradient = différence

Le gradient de concentration entre deux milieux c'est la différence de concentration entre les deux milieux.

b. Substances électrolytes

	ExtraCell (méq/l)	IntraCell (méq/l)	PE (potentiel à l'équilibre, mV)
Na^+	145	12	+ 65
K^+	4	155	- 95
Cl^-	120	3,8	- 90
anions organiques	7	155	-

- Concentrations ioniques de la fibre striée de Mammifères (PE = - 90 est le potentiel au repos)



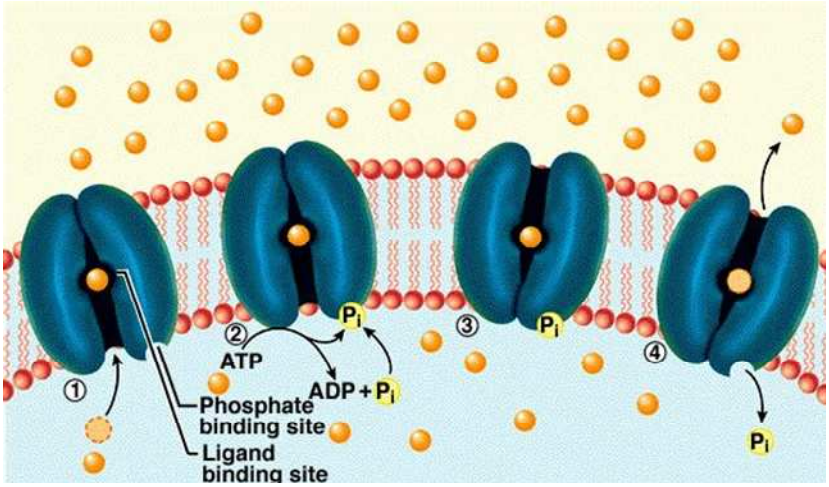
Le sodium et les chlorures ont une concentration élevée du côté extracellulaire, alors que le potassium et les anions organiques sont principalement intracellulaires.

La mesure de la différence de potentiel transmembranaire a montré que les chlorures sont répartis de manière passive entre les milieux intra- et extracellulaires, alors que les concentrations du Na^+ extracellulaire et du K^+ intracellulaire sont éloignés des concentrations d'équilibres et ceci devrait entraîner un flux de ces ions et établissement d'un état stable ou "état stationnaire". Donc il y a un mécanisme compensateur appelé **Pompe** à Na^+/K^+ ou **transport actif** qui intervient dans la répartition de ces ions. Le flux entrant de K^+ et le flux sortant de Na^+ sont couplés comme il a été montré par les expériences suivantes:

a) En absence de tout K^+ externe, le flux sortant d e Na^+ tombe à 30% de sa valeur initiale.

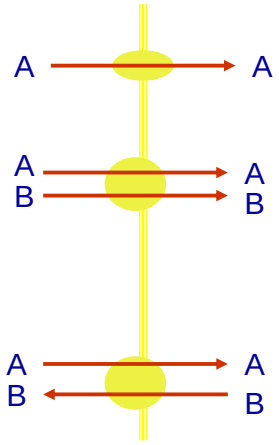
b) La mesure de ces flux montre que 3 Na^+ sont transportés pour 2 ions K^+.

Pour monter les besoins énergétiques de la pompe Na^+/K^+, l'application d'un découpleur de la synthèse d'ATP (ex: dinitrophénol) a provoqué la chute du flux sortant du Na^+ et entrant de K^+, alors que le flux sortant du K^+ et entrant de Na^+ ne sont pas affectés (flux passive).

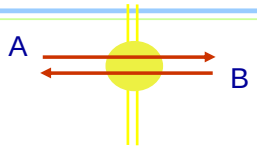


3 types de protéines de transport selon la direction du transport :

- **Uniport** : une substance dans une direction unique (cas le plus fréquent).
- **Symport** : deux substances, ensemble dans la même direction (l'une ne passe pas sans l'autre, les deux doivent passer ensemble).
- **Antiport** : deux substances en sens contraire (l'une est échangée contre l'autre).



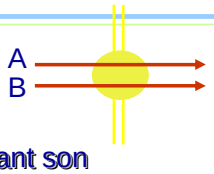
- **Antiport**



Un ion (Na+ en général) diffuse en suivant son gradient de concentration ou par transport actif . Ce déplacement permet à une substance de traverser en sens inverse CONTRE son gradient de concentration.

- **Pompe Na^+ / K^+ :** le transport actif du Na+ dans une direction permet le transport du K+ dans l'autre.

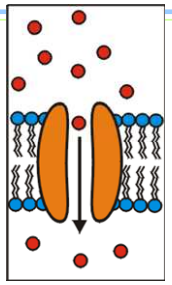
- **Symport** :



Un ion (Na+ en général) diffuse en suivant son gradient de concentration. Cette diffusion permet à une substance de traverser en même temps CONTRE son gradient de concentration.

- Pompe à Na+ / glucose (cellules de l'intestin)
  Le Na^+ traverse en suivant son gradient de concentration et le glucose le suit CONTRE son propre gradient.

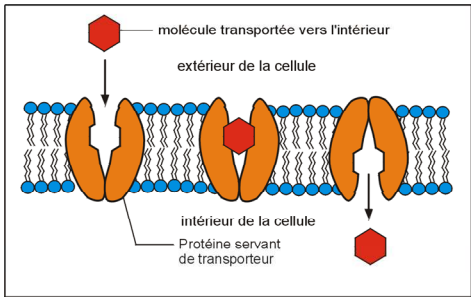
Des protéines de la membrane permettent le passage de ce qui ne peut passer à travers les lipides :



- **Forment des canaux à travers la membrane**

OU

- **s'associent aux molécules à transporter et les déplacent dans la membrane**

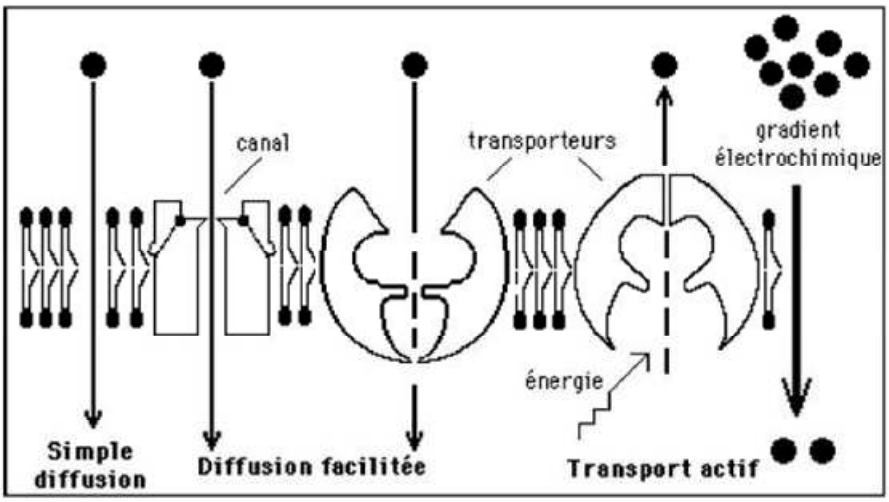


Transporteurs de membrane:

- **Peuvent se faire et se défaire rapidement ==> leur nombre peut varier**
- **Certains peuvent se fermer et s'ouvrir**
- **Sont souvent très sélectifs**

DONC
la perméabilité de la membrane à certaines substances peut se modifier

Modalités du transfert de petites molécules à travers les membranes biologiques



3. Endocytose et exocytose

a. Endocytose

L'endocytose est la capture par la cellule d'une substance par invagination de la membrane plasmique puis sa pénétration à l'intérieur de la cellule sous forme d'une vésicule.

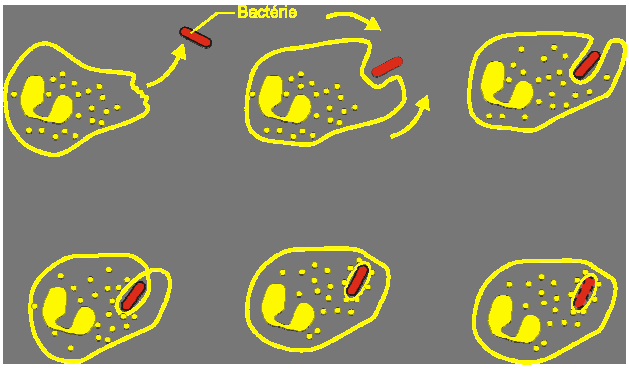
Il y a 2 types d'endocytoses:

- **La phagocytose** (Grec phagein=manger): les particules capturées sont solides et de grande taille (les bactéries de taille de 1 µm ou plus). Il y a formation d'une vacuole de phagocytose.
- **Pinocytose** (pinein=boire): des gouttelettes de liquides renfermant des particules ou non sont emprisonnées dans des vésicules d'endocytose suivant 2 phases:

*Phase d'accolement: les particules s'attachent aux "*cell coat*".

*Phase d'ingestion: les particules sont entraînées dans la cellule par des mouvements d'invagination de la membrane plasmique grâce aux microfilaments. Cette 2ème phase nécessite une activité cellulaire et un apport d'énergie (car inhibé à basse T°, en manque d'oxygène et par des poisons métaboliques).

Phagocytose d 'une bactérie par un globule blanc



Rôle de l'endocytose:

L'endocytose intervient dans divers processus:

- Digestion cellulaire: chez les protozoaires (amibe).
- Stockage des réserves: grains de vitellus des ovocytes et chez certains insectes et vertébrés.
- Phénomène de défense: Phagocytose des bactéries par les globules blancs.
- Transit des molécules: transport des substances d'une face à l'autre des cellules endothéliales des capillaires sanguins sans contact avec l'hyaloplasme.

b. Exocytose

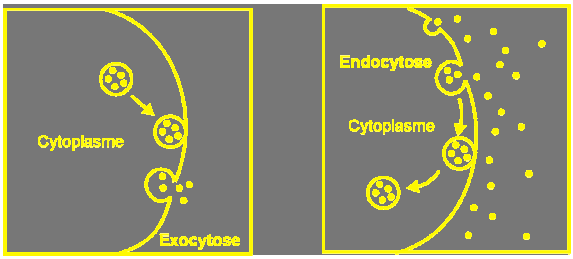
C'est le phénomène inverse de l'endocytose, les substances contenues dans des vésicules sont rejetées dans le milieu extracellulaire sans traverser de la membrane, ceci se fait en plusieurs étapes:

- **Migration intracellulaire**: les vésicules sont entraînées par des courants cytoplasmiques et guidées par les microtubules.
- **Apposition**: Accolement de la membrane de la vésicule à la membrane plasmique, la fusion de ces deux membranes donne le diaphragme.
- **Décharge**: Rejet du contenu de la vésicule.

Un des rôles de l'exocytose est l'épuration cellulaire, qui nécessite la présence des ions Ca^{2+}.

Transport des macromolécules

- Exocytose
- Endocytose



4. Propriétés de la surface cellulaire

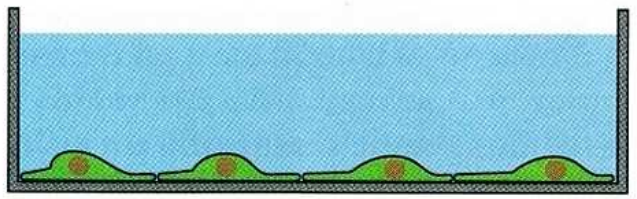
a. adhésion cellulaire

Trois principaux types de contacts:

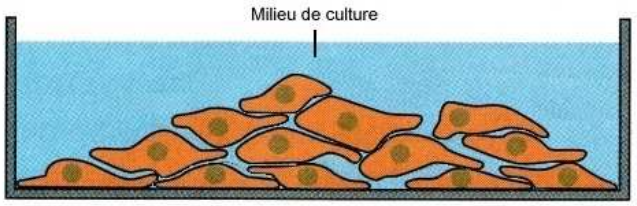
- Revêtement de plusieurs cellules par une même substance (cellulose).
- L'agrégation des cellules par du matériel intercellulaire tel que les mucoprotéines (lyse par les protéases et mucases).
- L'agrégation peut impliquer la présence de canaux intercellulaires. Ex.: chez les végétaux, présence de pont cytoplasmiques ou plasmodesmes (connexion étroite entre les cellules).

b. Inhibition de contact

Lorsque les cellules normales sont mises en culture, elles se multiplient et forment un film monocellulaire puis il y a inhibition de division cellulaire par le contact des cellules entre elles. Par contre les cellules cancéreuses ou malignes cultivées dans les mêmes conditions perdent cette inhibition de contact, se multiplient et se déposent en plusieurs couches. Ceci est dû à un changement dans les oligosaccharides de leur surface cellulaire.



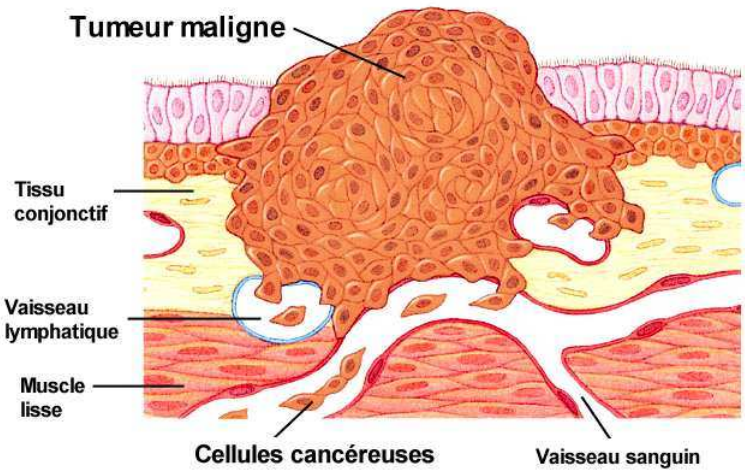
Cellules normales: inhibition de contact (couche unicellulaire)



Cellules tumorales: perte de l'inhibition de contact (couche multicellulaire)

D'après B. Alberts et al., 1994

© The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



c. Spécificité cellulaire

Dans le système ABO, les molécules responsables du groupe sanguin (glycoprotéines) sont à la surface des globules rouges. Les individus du groupe A et de B, diffèrent seulement par l'ose terminal (N-acétyle galactosamine ou galactose). Cette spécificité est due à la présence de 2 enzymes hérités et qui conduisent à l'ajout du dernier ose.

d. Transmission d'information

Chez les organismes pluricellulaires, la transmission de l'information implique la membrane plasmique et peut se faire par 2 voies:

- **Transmission nerveuse**: la communication se fait à travers le système nerveux dont l'unité est la neurone.

-**Transmission humorale**: la communication se fait par la libération des hormones par les glandes dans le sang.

5. Spécialisation de la membrane plasmique

La membrane plasmique est capable de différenciations structurales qui permettent l'augmentation de la surface cellulaire et l'optimalisation des relations intercellulaires.

a. Microvillosités et invaginations

Ce sont des expansions qui augmentent la surface de la membrane et par conséquent plus d'échanges avec le milieu extérieur. Ex: cellules épithéliales.

b. Contacts intercellulaires

Si certaines cellules, comme les hématies restent isolés pendant leur vie, d'autres sont groupées en tissus, leurs membranes cellulaires développent par endroit des zones de jonctions.

b. 1. Espace intercellulaire

C'est un espace large de 150 à 200Å rempli de ciment glycoprotéine (collagène, élastine et polysaccharides) qui a besoins d'ions bivalents (Ca^{2+}, Mg^{2+}) pour assurer cette cohésion.

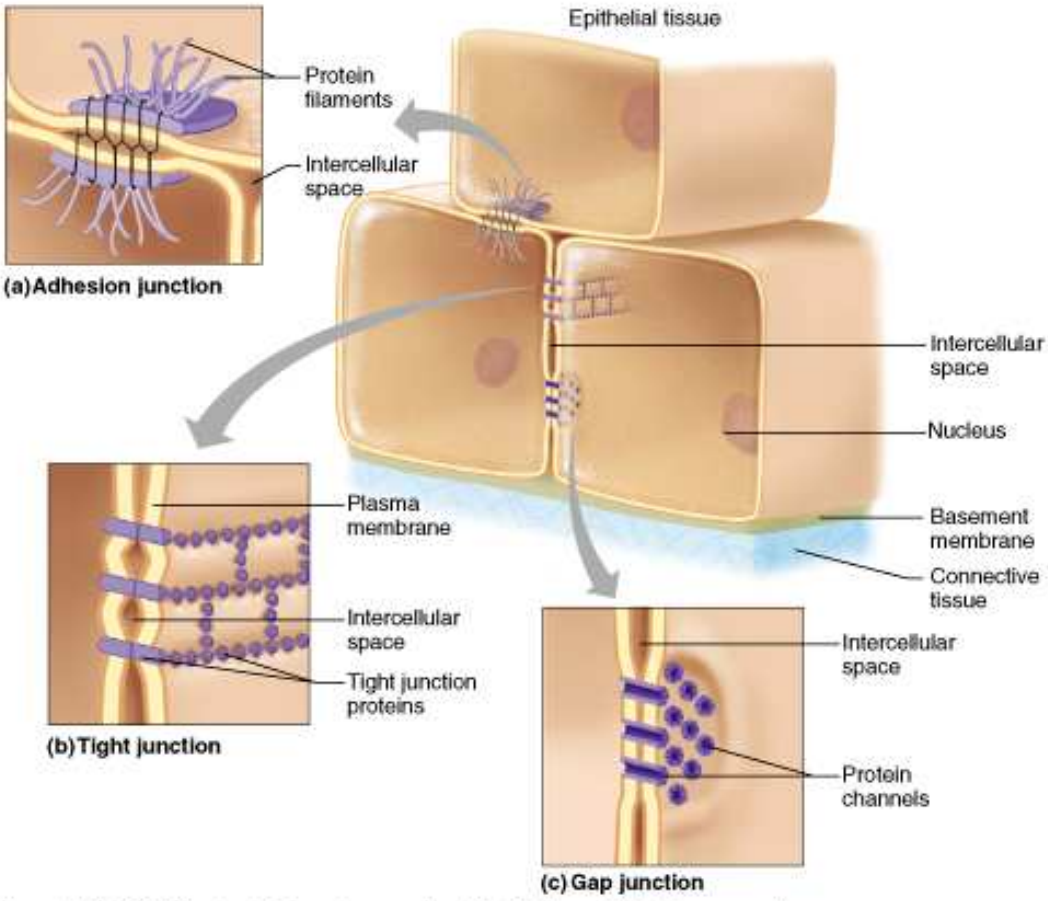
b. 2. Les complexes jonctionnels:

Selon leurs fonctions, on distingue:

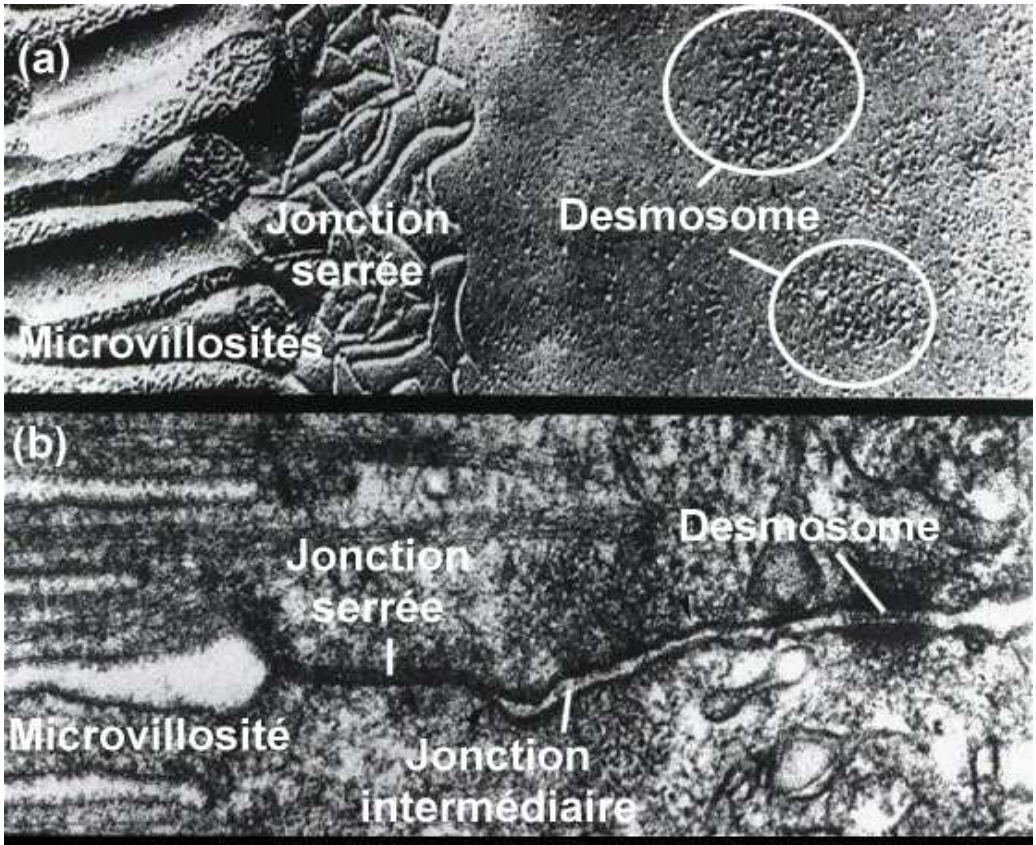
- *Jonction de type occludens / Tight jonction*: soudure de l'espace intercellulaire à certains endroits et assure l'étanchéité de l'espace intercellulaire. Ex: cellule épithéliale (pas d'échanges entre les cellules).

- *Gap junction / Jonction lacunaire*: l'espace intercellulaire très réduit (20Å). Les cellules sont communicantes et permettent le passage des petites molécules hydrosolubles grâce à des particules intramembranaires(inférieur à 100 daltons).

- *Desmosomes ou "macula adhérens"*: 0,5 µm de diamètre et 200Å ou plus d'espace intercellulaire qui est large et rempli d'un ciment dense aux électrons. Les membranes plasmiques voisines sont rectilignes et parallèles, les faces internes des membranes sont recouvertes des faisceaux et de tonofilaments. Ex.: cellules de l'épiderme et des muqueuses.

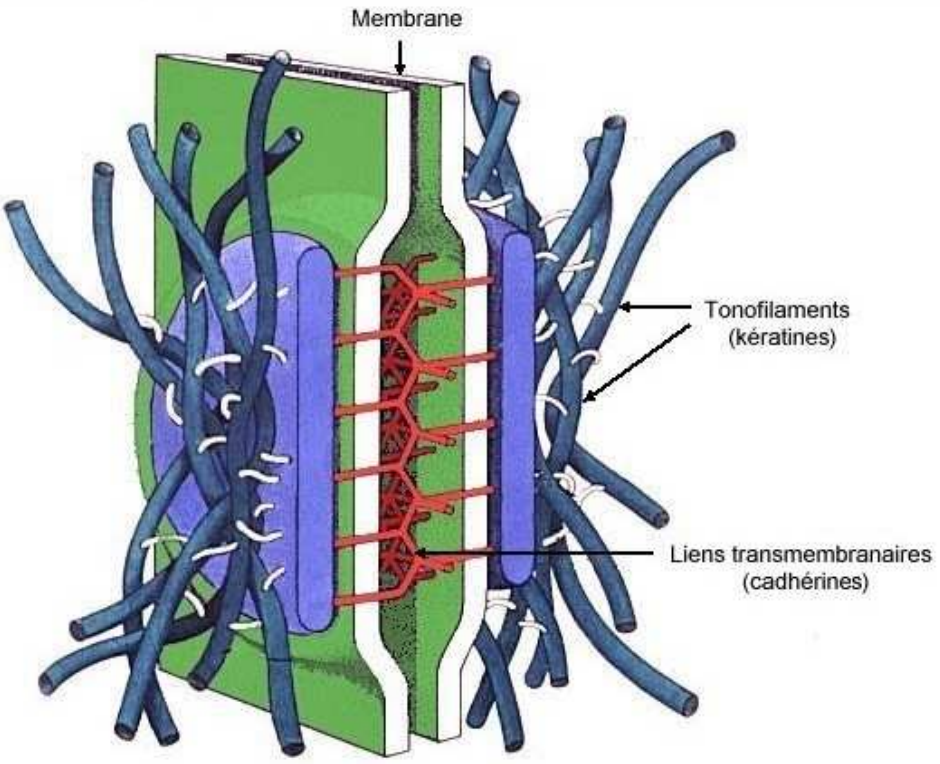


Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



Complexe de jonction en cryofracture (a) et en coupe (b) : la jonction intermédiaire ne peut être identifiée en cryofracture

Document L. A. Staehelin et B. E. Hull, 1978



Desmosome

6. Biogenèse de la membrane cytoplasmique

La membrane plasmique se renouvelle continuellement et ceci à tous les stades de la vie cellulaire (division, croissance ou maturité). La vitesse de renouvellement dépend de la demi-vie de ses constituants (demi-vie: durée correspondant au remplacement de la moitié des molécules d'origine par des molécules nouvelles):

- Les polypeptides (PM élevé): demi-vie 2 à 5 jours.
- Les polypeptides (PM faible): demi-vie 7 à 13 jours.
- Les lipides : demi-vie de 3 à 5 jours.

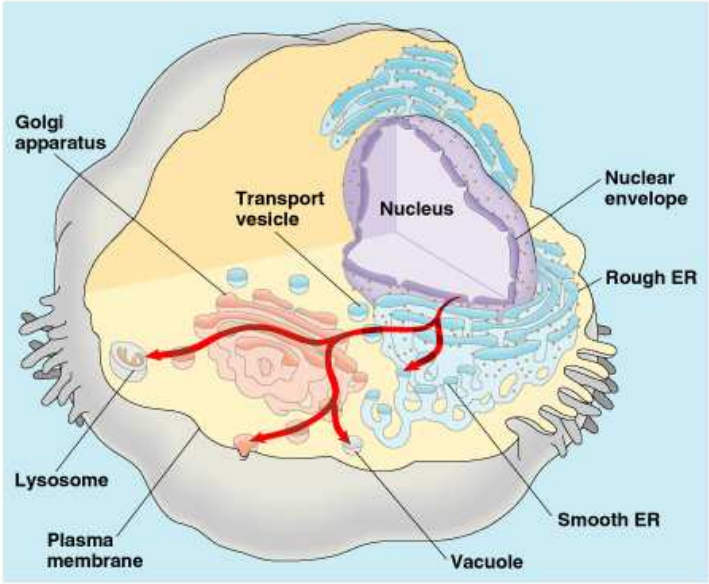
Lieu de synthèse des constituants membranaires:

- Les lipides amphiphiles au niveau des membranes du réticulum endoplasmique.
- Les polypeptides par les ribosomes: les protéines périphériques du côté hyaloplasmique par les ribosomes libres, celle situées sur le côté externe et les protéines intégrées par les ribosomes attachés aux membranes du réticulum endoplasmique.

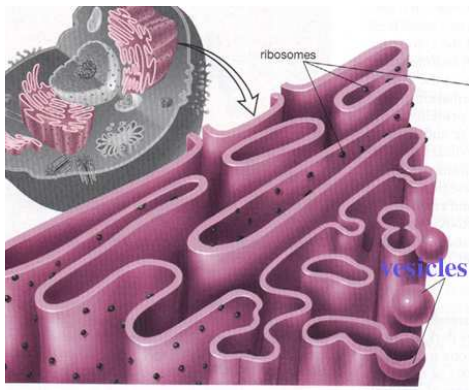
Chap. VI. Réticulum endoplasmique

I. Généralités

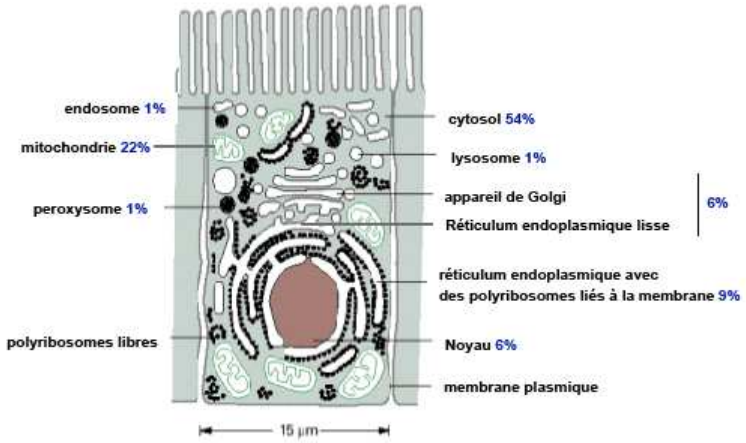
Il fait partie du système endomembranaire qui enveloppe plusieurs compartiments autre que le réticulum endoplasmique comme l'enveloppe nucléaire, l'appareil de Golgi, les lysosomes, etc.. Il faut noter que tous ses compartiments sont en continuité dans l'espace et dans le temps. Par ailleurs la membrane et les endomembranes des divers compartiments sont interconvertibles entre elles. Ceci implique des transformations structurales et fonctionnelles dans ce flux membranaire.



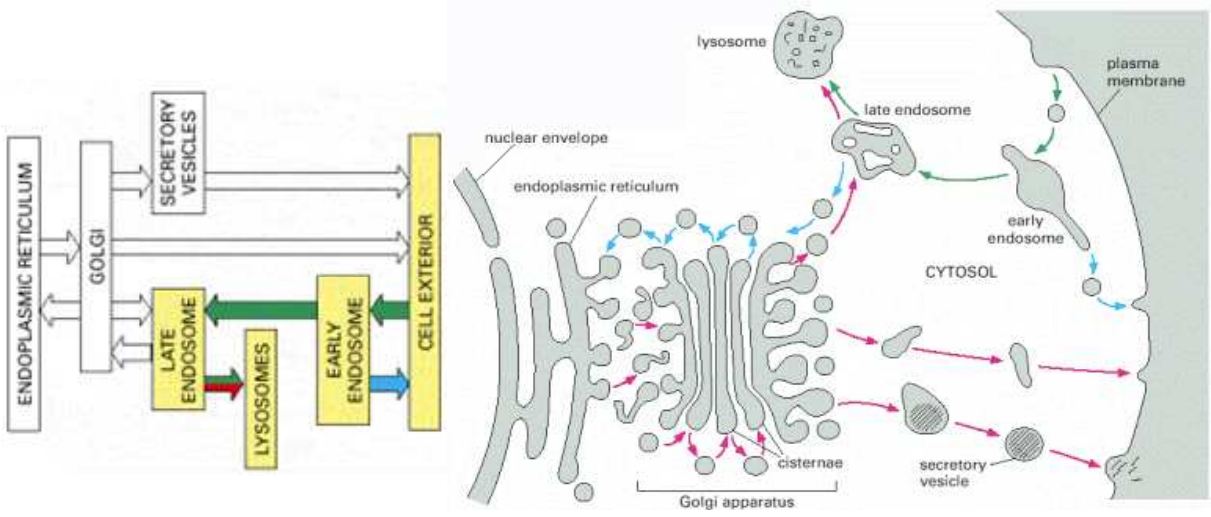
©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



Les principaux compartiments intracellulaires de la cellule



En bleu Pourcentage du volume total de la cellule

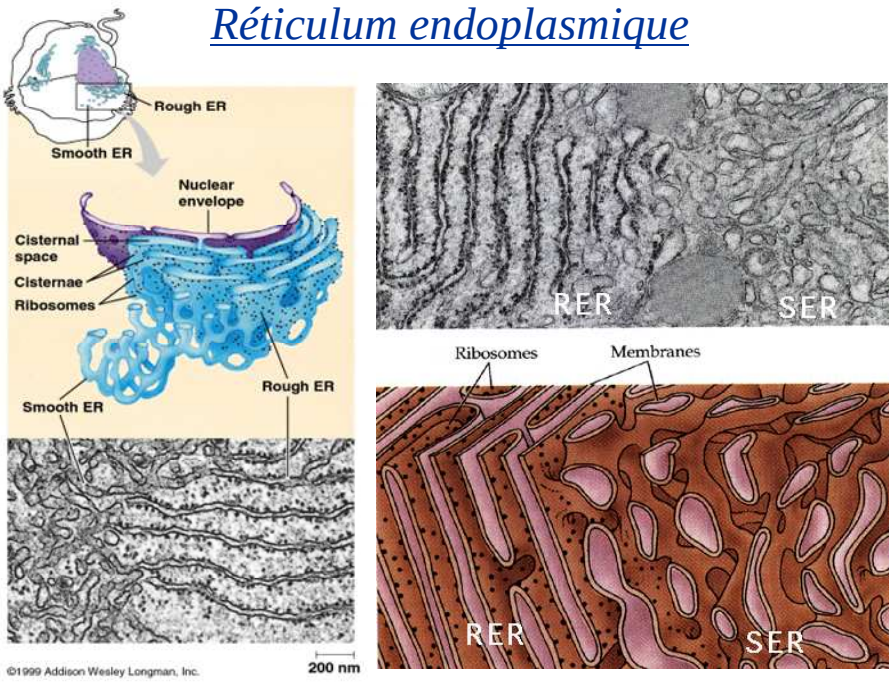


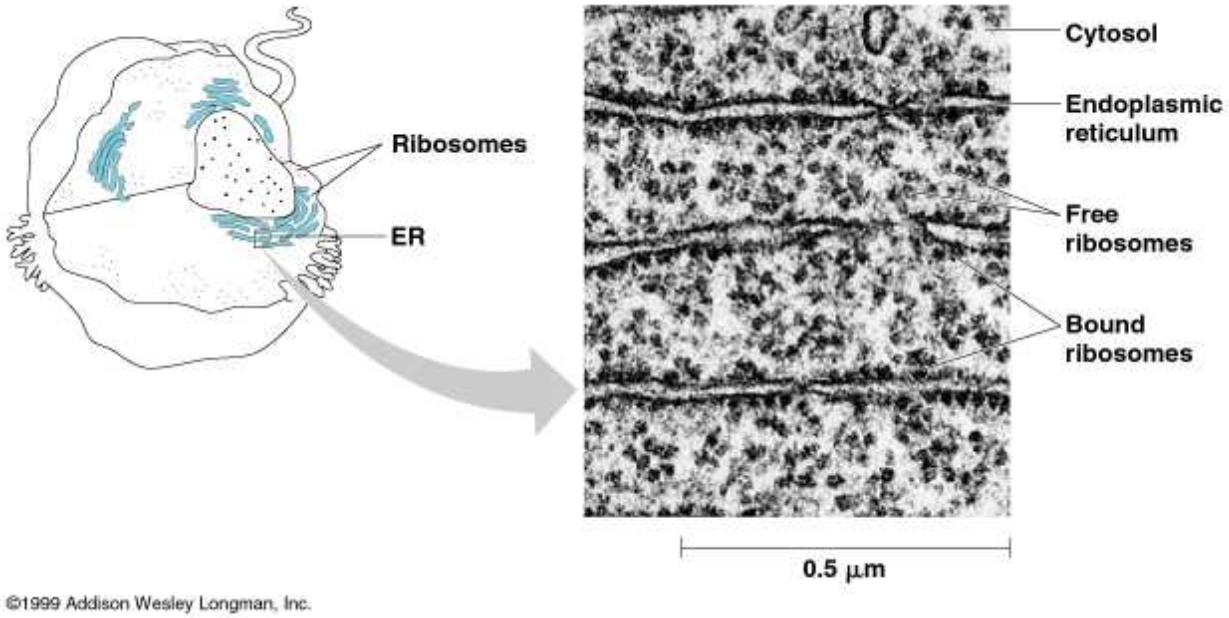
Voies de sécrétion endocytique et biosynthétique.
Dans ces « cartes routières » du trafic biosynthétique des protéines, les voies de sécrétion endocytiques et biosynthétiques sont illustrées avec des flèches vertes et rouges, respectivement. En outre, des flèches bleues sont employées pour dénoter les voies de recyclage qui assurent le retour des composants sécrétés.

II. Ultrastructure du Réticulum endoplasmique

C'est un système de cavités de forme irrégulière, de vésicules ou de tubules délimités par des membranes. Les cavités ou citernes communiquent entre elles et avec l'espace périnucléaire. L'extension de ce réseau dans le cytoplasme dépend du type cellulaire et de son état physiologique (absent dans les cellules d'oeufs ou embryonnaires mais augmente avec la différenciation, principalement dans les cellules glandulaires).

Réticulum endoplasmique

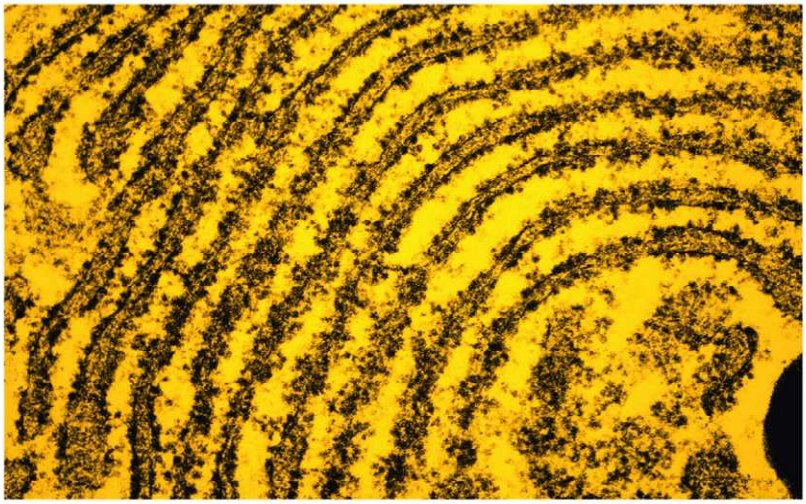




Les membranes du R.E. ont une structure comparable à celle de la membrane plasmique et n'en diffère que par leur épaisseur qui est de 50 à 60 Å au lieu de 75 Å. Il y a deux types:

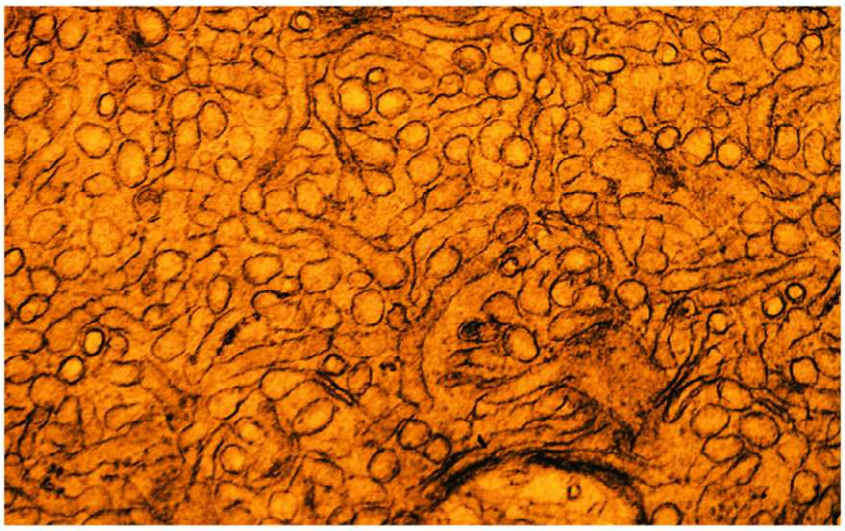
* Le R.E. rugueux (R.E.R) ou granulaire dit aussi ergastoplasmique dont les membranes portent sur leur surface hyaloplasmique des ribosomes, fixés aux membranes par leurs grosse sous-unités.

Réticulum endoplasmique rugueux RER (+ribosomes)



* Le R.E. lisse (R.E.L) ou agranulaire, qui est dépourvu de ribosomes et se présente généralement sous forme de canalicules aigus enchevêtrés.

Réticulum endoplasmiques lisse REL (-ribosomes)



Le R.E.R. est particulièrement développé dans les cellules qui synthétisent activement des protéines et des glycoprotéines alors que les R.E.L. dans les synthèses d'hormones et des lipides. Il peut y avoir coexistence de ces deux variétés du R.E. dans une même cellule, l'une ou l'autre prédomine selon le type cellulaire et l'état physiologique.

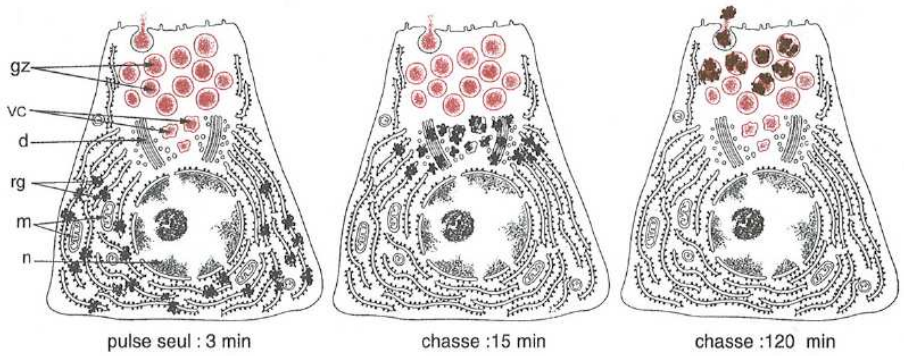


Figure 9.4

Expériences historiques sur la sécrétion des protéines par les cellules pancréatiques

Le phénomène sécrétoire est étudié au moyen d'expériences d'incorporation de leucine tritiée (de type *pulse-chase*), suivies d'autoradiographie. La radioactivité se déplace, au cours du temps, successivement dans les compartiments mis en jeu dans ce processus : réticulum endoplasmique rugueux (rg) ; appareil de Golgi (d) ; vésicules de concentration (vc) et grains de zymogène (gz) ; m : mitochondries ; n : noyau. (D'après J. Jamieson).

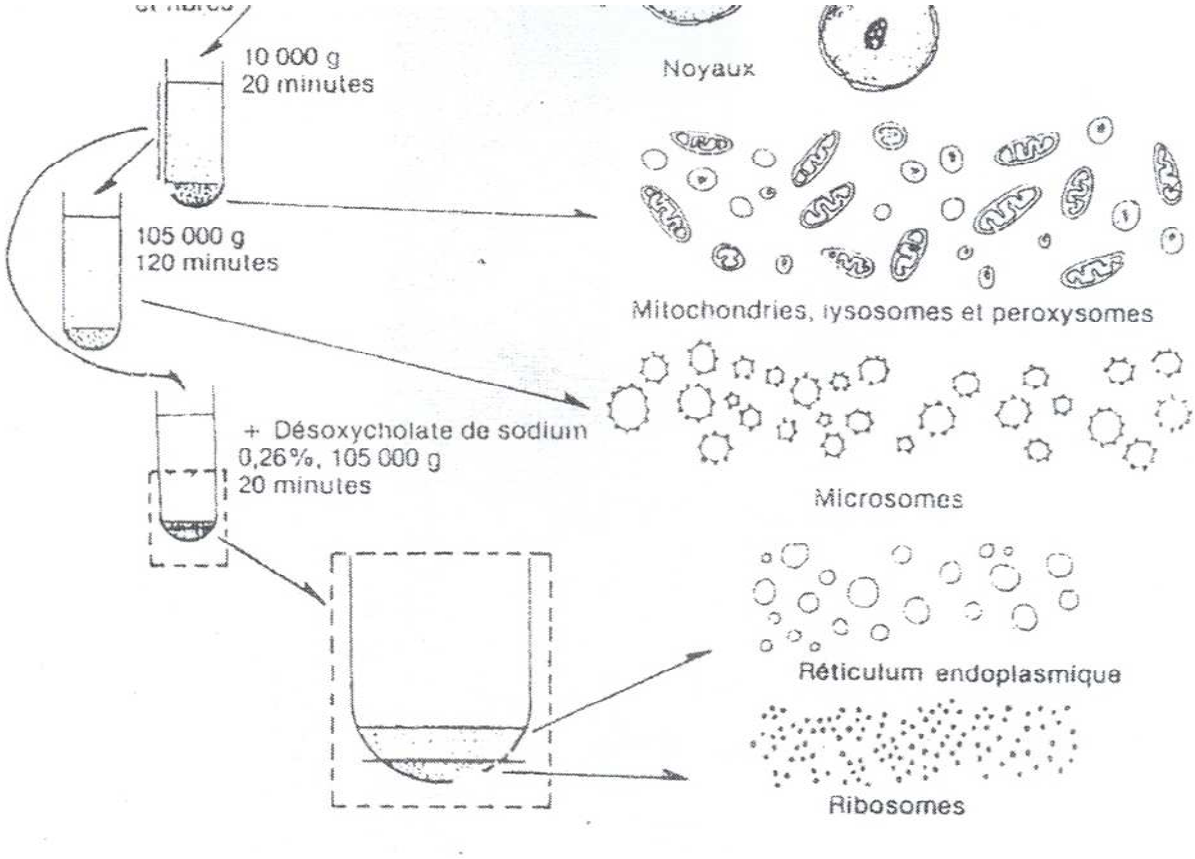
Incorporation de leucine tritiée de type pulse-chasse suivie d'autoradiographie.
On observe un déplacement de la radioactivité dans le temps: RE vers **Golgi** vers **lumière de la glande**

III. Isolement et composition chimique

Pour isoler les R.E., on utilise la technique de centrifugation différentielle qui les réduit sous forme de *microsomes*. Ces derniers sont traités par un détergent (désoxycholate de sodium) puis par ultracentrifugation sur gradient de densité on sépare les membranes du R.E. des ribosomes.

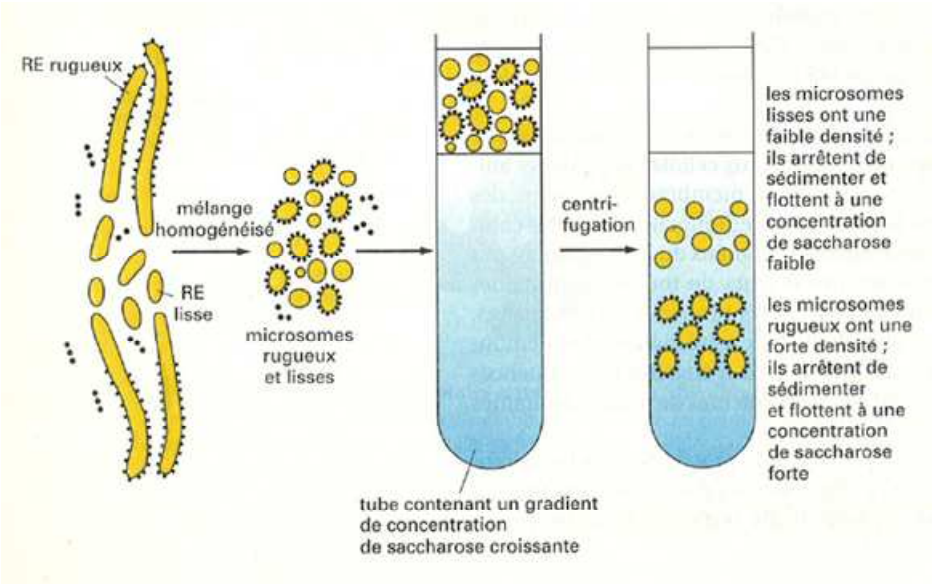
La constitution chimique des membranes est comparable à celle de la membrane plasmique c.à.d. protéines et phospholipides avec cependant un rapport protéine/lipides presque égal à 2 (celui

du plasmalemme environ 1). Durant les préparations des microsomes, on perd tout le contenu des cavités du R.E. mais l'on conserve des phosphatases;



Les régions rugueuse et lisse du RE peuvent être isolées

Microsomes: Vésicules se formant spontanément à partir de membrane du RE suite à l'homogénéisation de la cellule. Ils gardent la même polarité structurale que celle du RE d'origine et donc les mêmes propriétés fonctionnelles. Facile à purifiées.



IV. Biogenèse et rôle du R.E.

Se fait principalement à partir des la membrane externe de l'enveloppe nucléaire par bourgeonnement mais peut naître par association entre les différentes composantes nouvellement synthétisés. Le R.E.L. peut se former à partir du R.E.R par perte de ribosomes.

Le réseau de cavités du R.E. constitue une sorte de système de circulation intracellulaire en particulier dans le stockage et le transport des protéines (R.E.R.) et des lipides (R.E.L.).

Les substances sont d'origines endogènes synthétisés par la cellule ou d'origine exogène capturés par endocytose du milieu extracellulaire. Les molécules ainsi véhiculées par les citernes du R.E. ne franchissent jamais la barrière membranaire pour passer dans l'hyaloplasme. Donc les molécules du R.E par leur équipement enzymatique participent au:

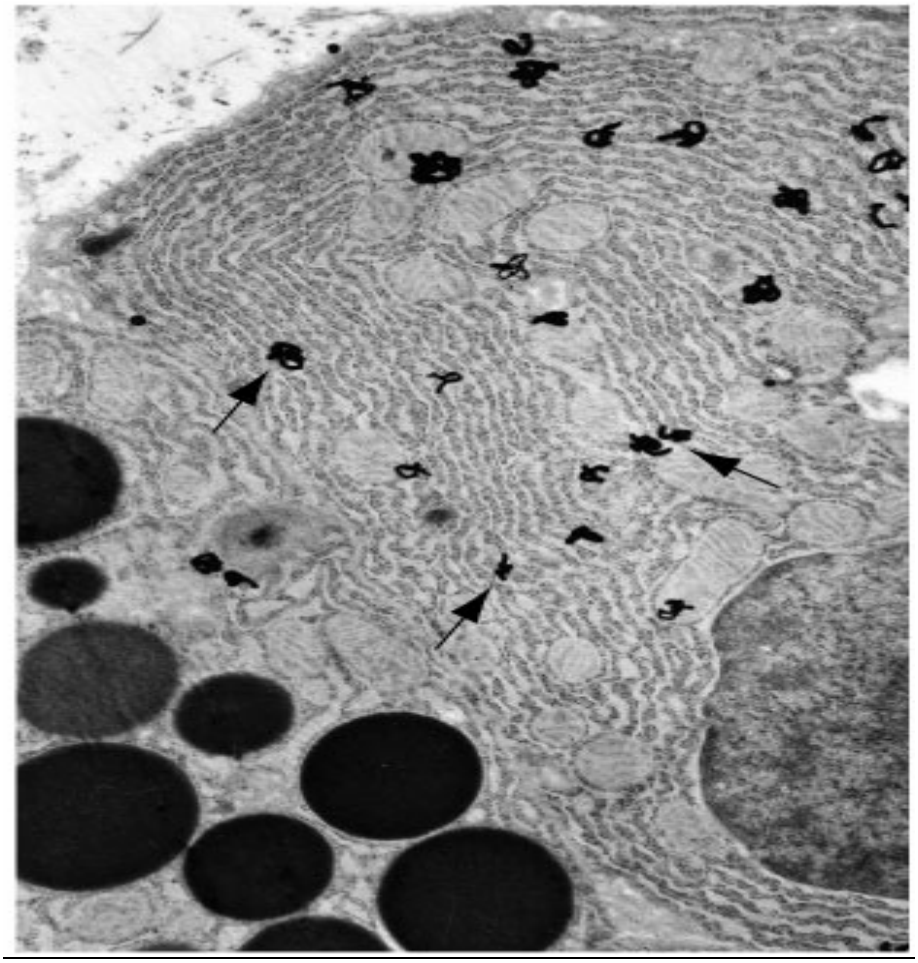
a- Métabolisme des:

- protéines: par les polysomes associés au R.E.R. pour les protéines destinés à l'exportation (ou par les polysomes libres lorsque les protéines sont utilisés à l'intérieur de la cellule, voir cellule acineuse du pancréas). Importance dans repliement des chaînes peptidiques par des protéines chaperons, abondantes dans la lumière du R. E.
- lipides: biosynthèse des phospholipides et cholestérol, métabolisme des lipides intestinaux,
- glucides: glycogenèse ou dépolymérisation du glycogène et intervention dans la glycosylation.

b- Croissance et renouvellement des membranes: par exocytose via l'appareil de Golgi.

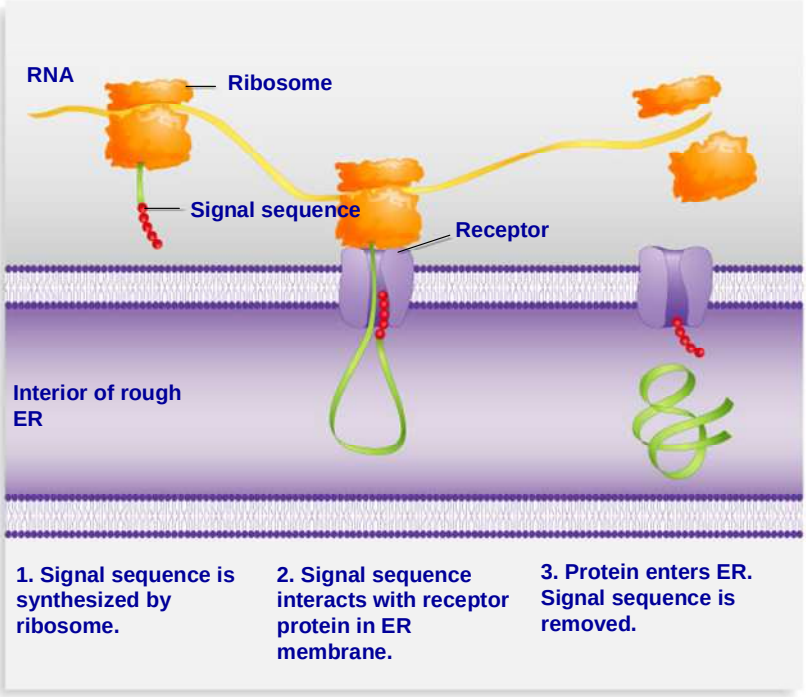
c- Transport d'ions dans la fibre musculaire: (Ca^{2+}).

d- Détoxification par transformation des composés endogènes toxiques à la cellule en des élements utiles à celle-ci.

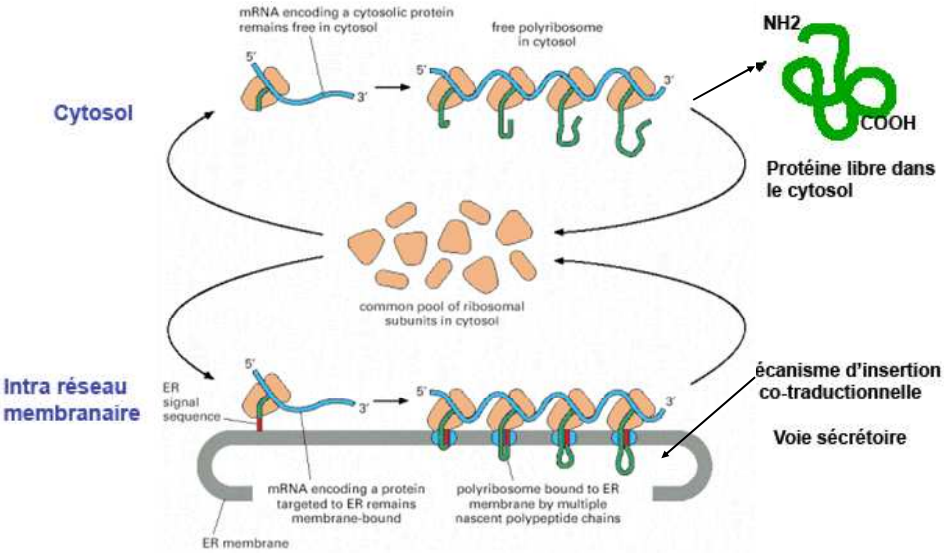


Le réseau de cavités du R.E. constitue une sorte de système de circulation intracellulaire en particulier dans le stockage et le transport des protéines (R.E.R.) et des lipides (R.E.L.).

Rôle du R.E

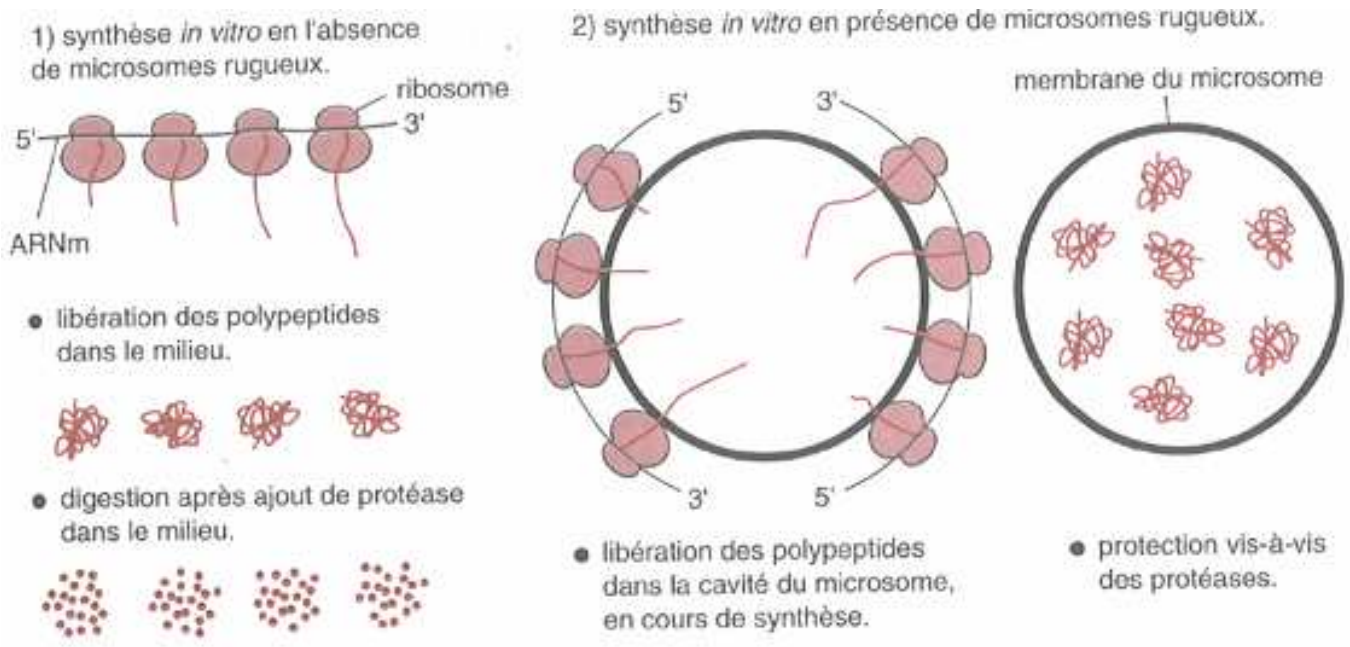


Deux voies de synthèse des protéines



Mise en évidence du processus d'insertion co-traductionnelle

La protéine synthétisée est injectée dans le RE en même temps qu'elle est polymérisée par les ribosomes



Mise en évidence de la séquence signal des protéines sécrétées

Système n'utilisant que des ribosomes libres

 Chaîne polypeptidique plus longue que celle faite *in vivo.* La différence de longueur porte sur une séquence en Nt constituée de quelques acides aminés

Système utilisant des microsomes rugueux

 forme courte normale de la protéine

Fonctions du RE

RER

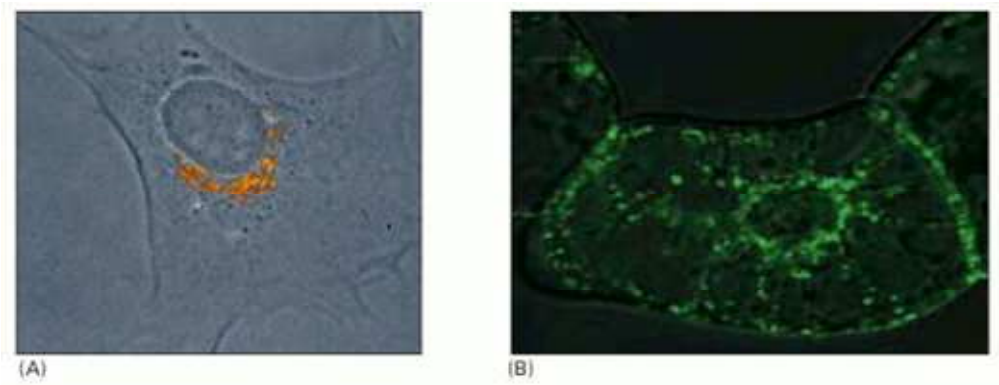
- Site de production des protéines transmembranaires
- Site de production des protéines résidentes du RE, du Golgi, des endosomes et lysosomes
- Site de production des protéines secrétées
- N-glycosylation des protéines

REL

- Formation des vésicules qui vont fusionner avec le Golgi
- Synthèse des phospholipides
- Synthèse d'hormones stéroïdes
- Stockage du Ca++
- Siège des phénomènes de détoxification

Chap. VII. Appareil de Golgi

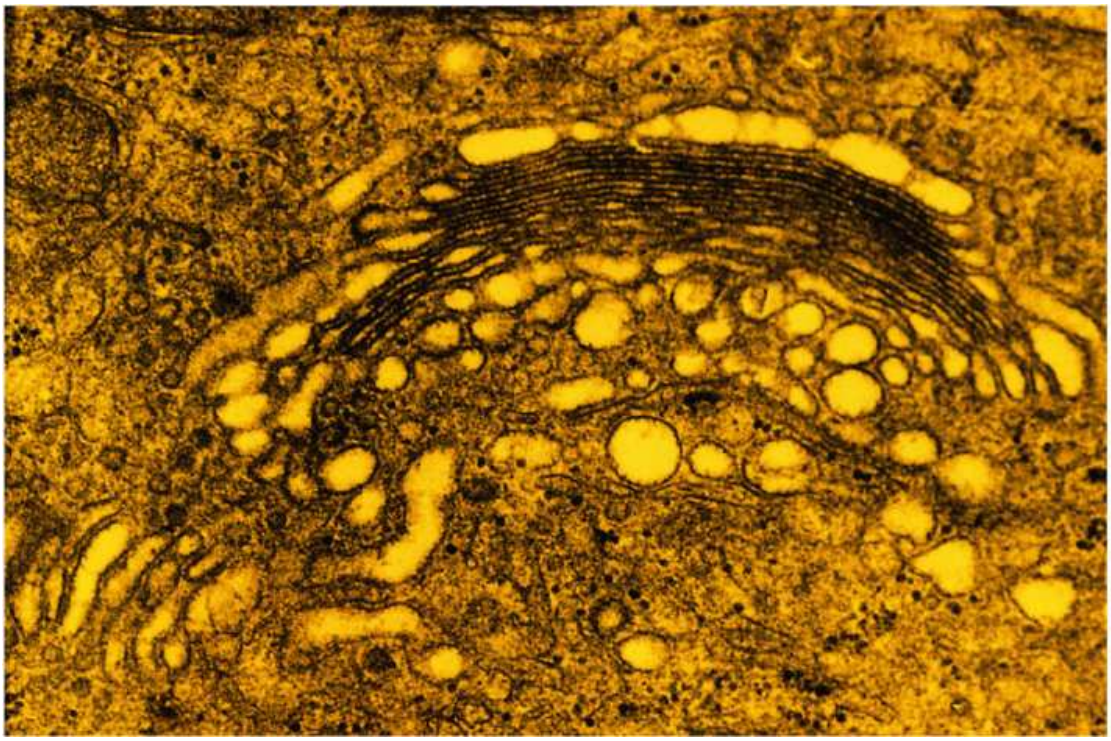
Présent chez tous les eucaryotes et est constitués de l'ensemble des dictyosomes de la cellule (une vingtaine à quelques dizaines).



fibroblaste **Cellule végétale**

La localisation de l'appareil de Golgi

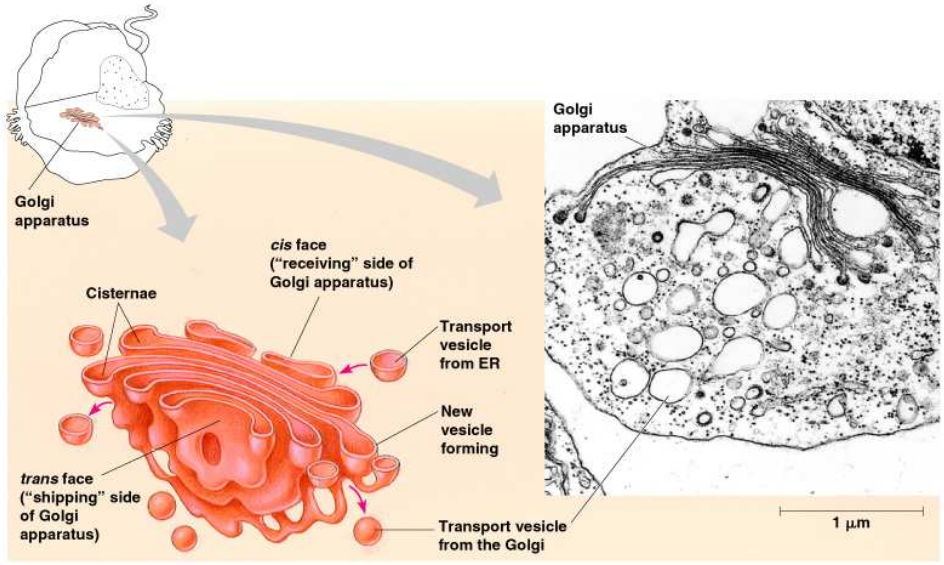
L'appareil de Golgi a été mis en évidence par microscopie optique à la fin du 19ième siècle par Camillo Golgi.



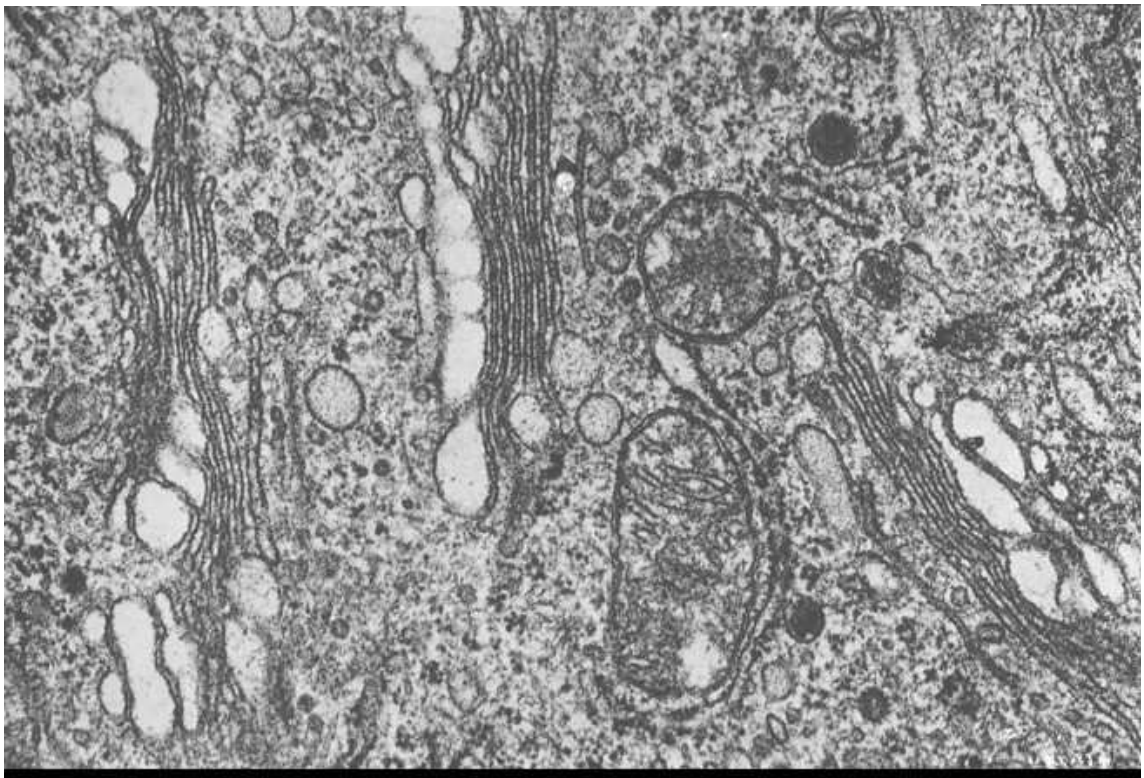
I. Ultrastructure

Un dictyosome renferme une dizaine de cavités. Ces cavités sont régulières et limités par des membranes formant ainsi des disques aplaties appelés les saccules.

La structure des membranes est très similaire à la membrane plasmique c.à.d de structure tripartite. La particularité des dictyosomes c'est que chacun des disques est capable de bourgeonner.



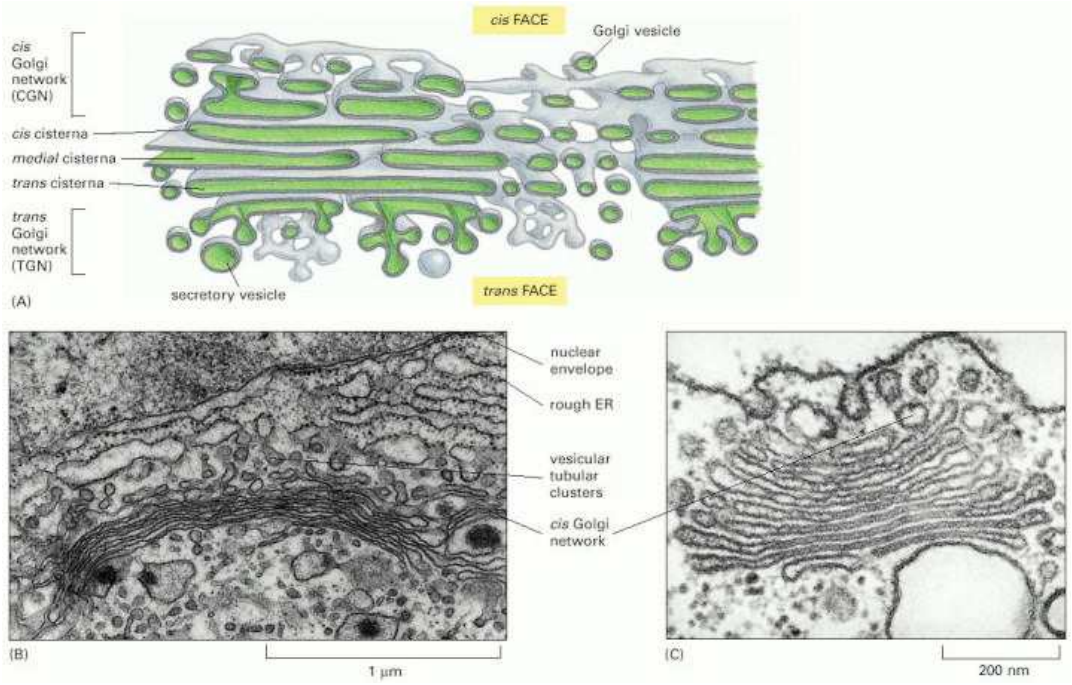
©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



Dictyosomes dans une cellule épithéliale

Document J. E. Michaels et C. P. Leblond, 1976

La structure de l'appareil de Golgi

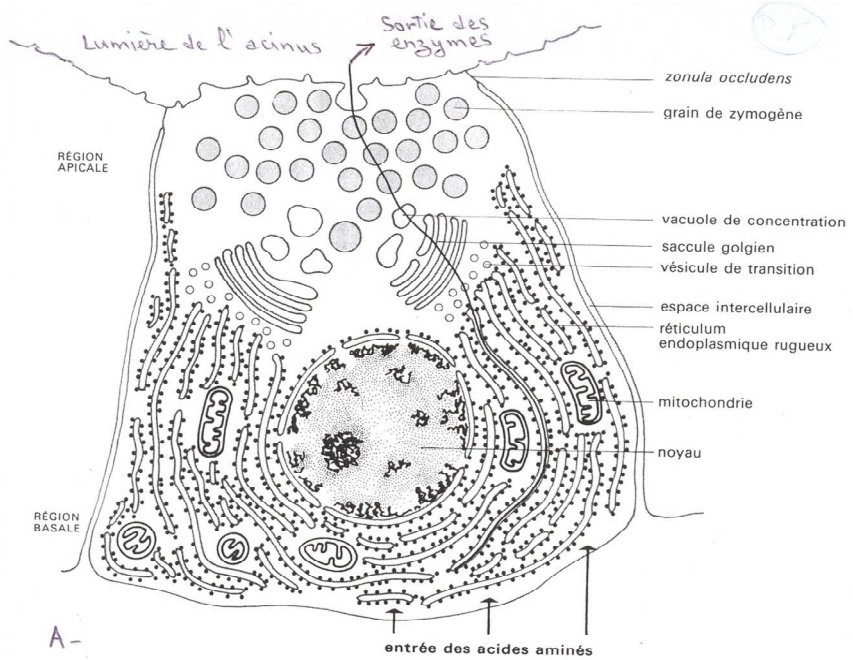


II. Composition chimique et origine

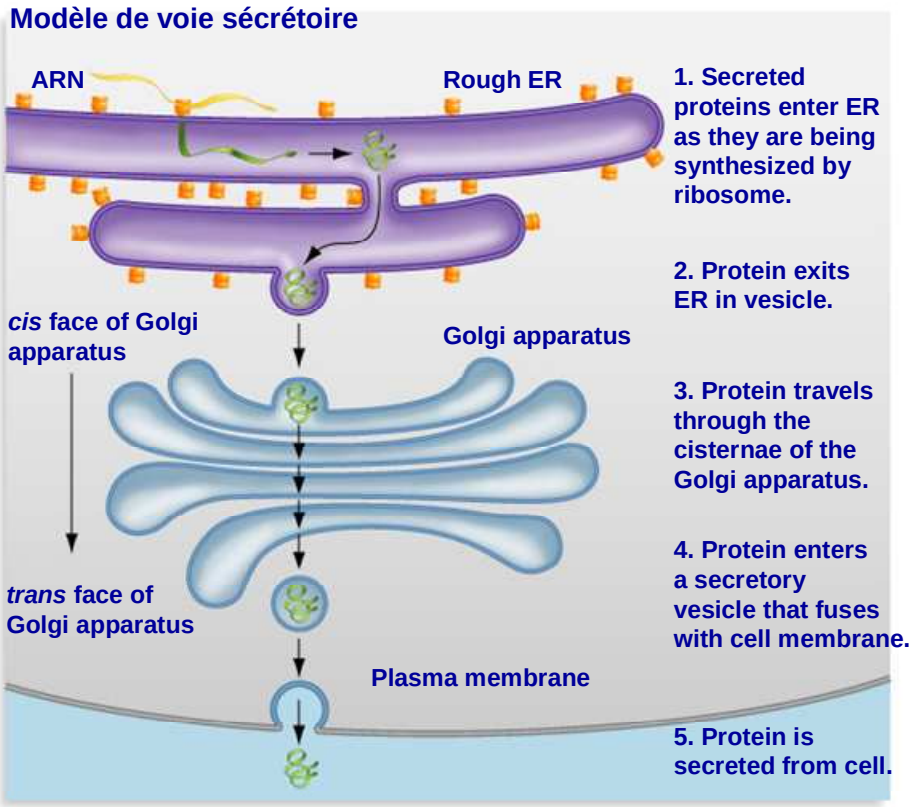
C'est celle de la membrane plasmique. Il s'agit donc de protéines, phospholipides ainsi que des enzymes surtout les phosphatases. Dans les saccules on a des polysaccharides, des protéines et des glycoprotéines avec divers enzymes.

Les saccules des dictyosomes sont formés par bourgeonnement de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire qui fournit des vésicules. Cette synthèse peut avoir lieu en passant par le R.E. comme intermédiaire. Ceux-ci vont fusionner pour former les saccules**.**

Contiguïté entre réticulum endoplasmique et appareil de Golgi

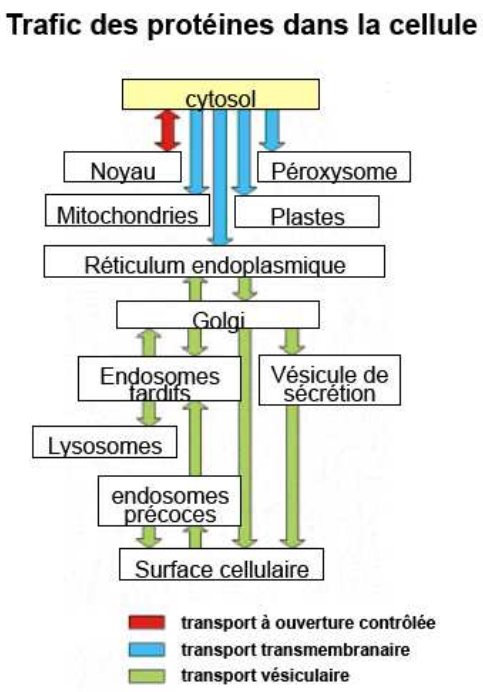


III. Rôle de l'appareil de Golgi
L'appareil de Golgi remplie d'importantes fonctions:

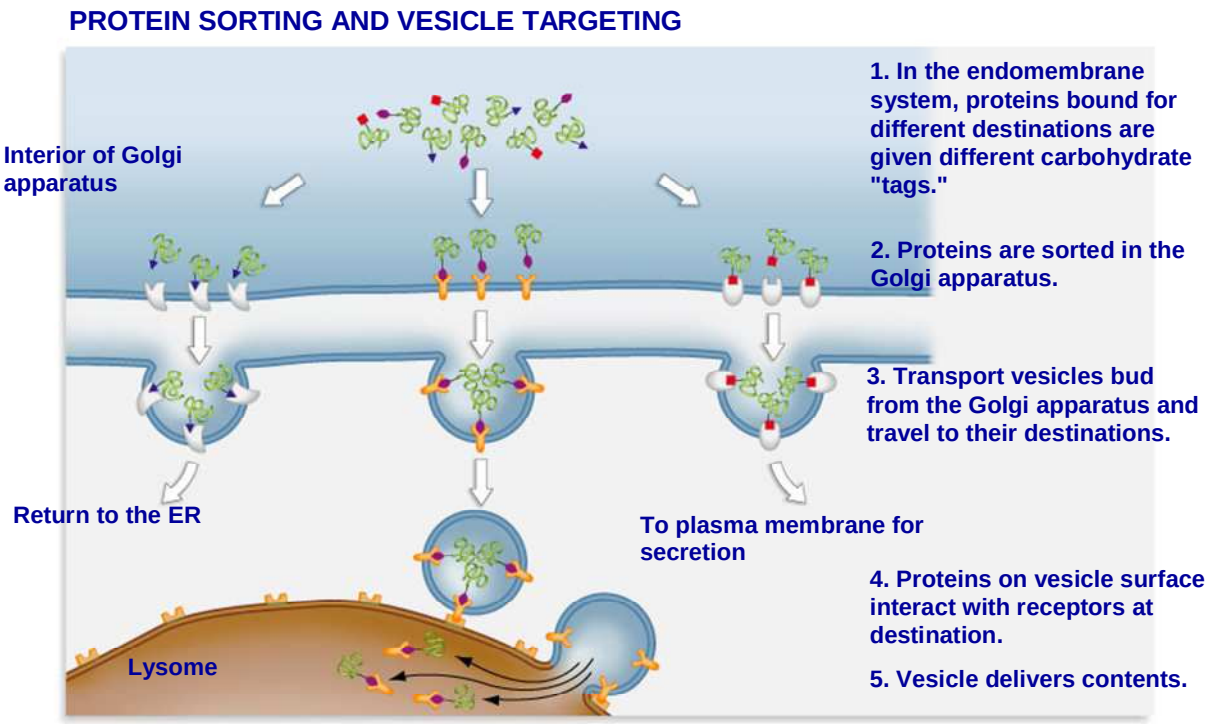


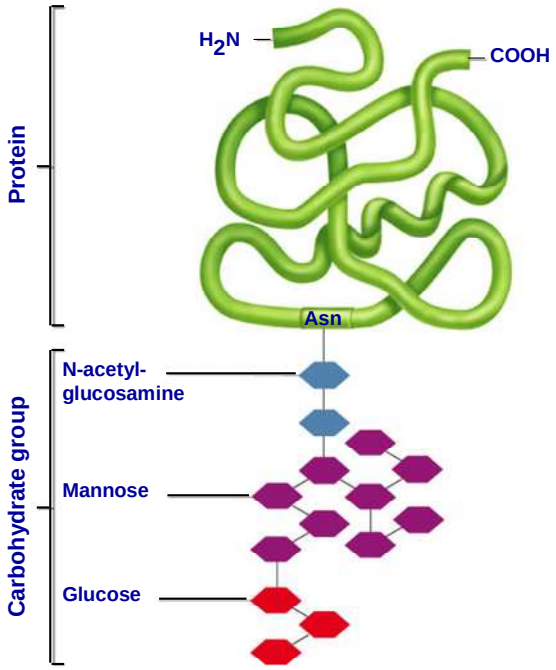
a- *Dans le transfert des produits de sécrétion*: Les protéines assemblées dans les membranes du R.E. par les ribosomes passent dans les cavités de ce réticulum et remplissent les vésicules qui iront fusionner avec les sacs golgiennes à la base du dictyosome. Ces protéines destinées à être sécrétés hors de la cellule sont chimiquement modifiées lors de leur passage à travers l'appareil de Golgi. Plus précisément sont transformés en glycoprotéines. L'appareil de Golgi assure donc au cours de ce transfert l'emballage membranaire, le transport et la libération par exocytose des produits de sécrétion.

b- *La ségrégation des enzymes lytiques*: Ex. l'acrosome des spermatozoïdes. La partie antérieure du spermatozoïde des vertébrés est constitué par l'acrosome . Cette formation vésiculaire coiffant le noyau contient des enzymes lytiques nécessaires à la pénétration du gamète dans l'ovule au moment de la fécondation.



c- *Glycosylation*: L'appareil de Golgi est le site essentiel de la glycosylation des protéines et des lipides.

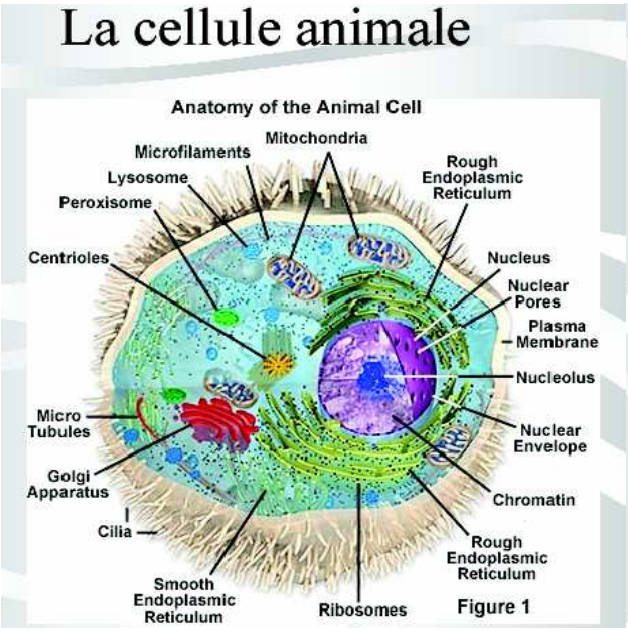


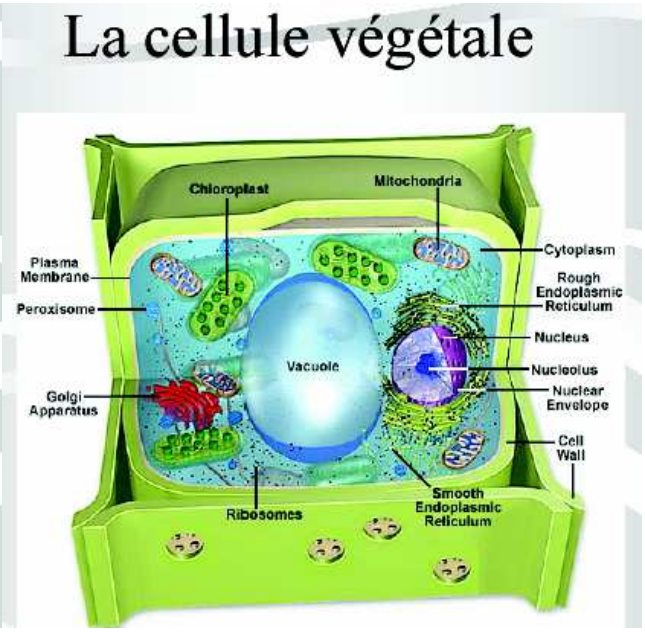


d- *Renouvellement de la membrane plasmique.*

e- *synthèse de la paroi squelettique de la cellule végétale.*

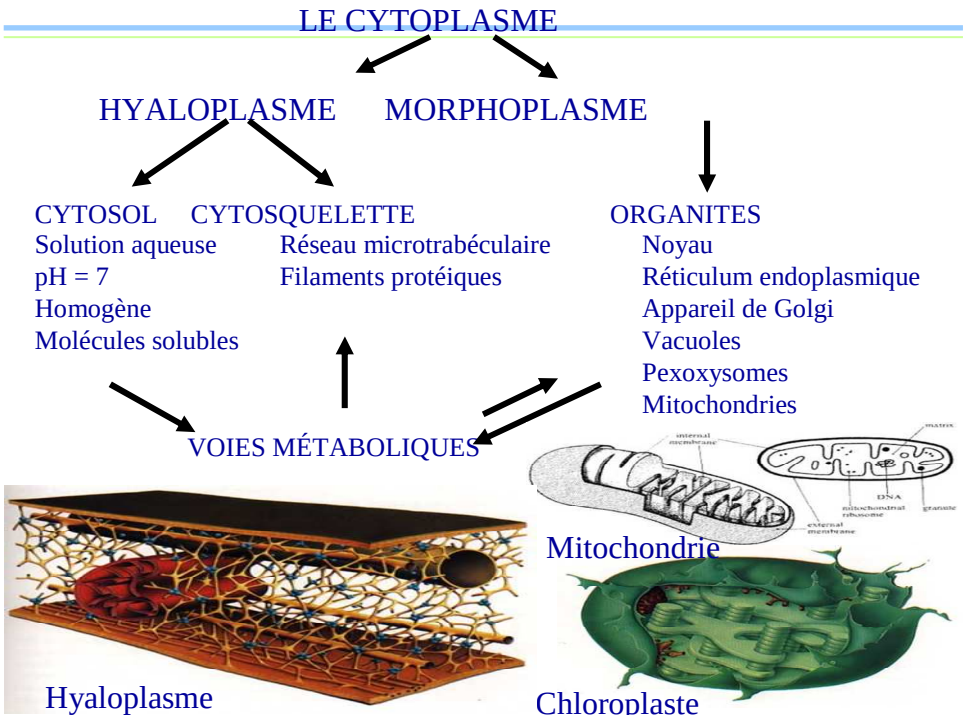
Chap. VIII. L'hyaloplasme





I. Définition

C'est la substance fondamentale où baignent tous les organites cellulaires. Sa structure et la nature de ses constituants chimiques changent beaucoup selon l'état physiologique et le type de la cellule. Chez les eucaryotes, l'hyaloplamse (= cytoplasme) est délimité par la membrane et les endomembranes du noyau et des organites.



II. Caractères généraux

1. Structure

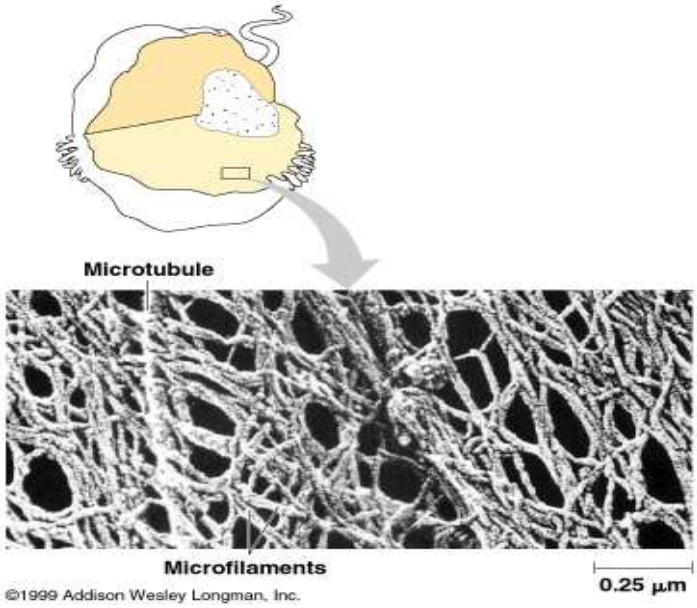
L'hyaloplasme est transparent au microscope photonique (hyalin = transparent comme le verre), on dit qu'il est optiquement vide. Au microscope électronique il présente différentes structures:

a- Structure fibrillaire: grâce aux microtubules (formations creuses de 200 à 300Å de diamètre, *stables* à rôle structural comme le cytosquelette ou *labiles*, impliqués dans les mouvements ou divisions cellulaires) et des microfilaments (tonofilaments de 50 Å de diamètre).

b- Structure granulaire: correspond aux substances de réserves. Ex. Glycogène: granules de 150 à 300Å de diamètre dans les cellules animales et végétales (particule □) ou sous une forme d'amas de 1000 à 2000Å dans le fois (particule □ou rosette).

c. Structure globulaire: formée par les globules protéiques (cellule de pancréas) ou lipidiques (tissu adipeux des cellules animales ou végétales). Les globules peuvent être ou non séparés de l'hyaloplasme par une membrane.

Ces structures suivent les courants cytoplasmiques et leur quantité peut varier: Ex. Après le jeun, le glycogène du foie disparaît et les globules lipidiques augmentent.



Constituants du Cytosquelette

	Microfilaments	Filaments Intermédiaires	Microtubules
Sous-unites Protéiques	Actine	Kératine, vimentine, lamine, autres	α-tubuline et β-tubuline dimères
Structure	Deux reliures entrelacées	Fibres câbles plus épais	Tube creux
	7 nm	10 nm	25 nm
	Sous-unité d'Actine	Sous-unité de Kératine	Dimère de Tubuline

Constituants du Cytosquelette

Les trois types de filaments constituant le cytosquelette varient par leur taille, structure et les protéines formant les sous-unités des fibres.

2. composition chimique

L'hyaloplasme est constitué essentiellement d'eau (85%) et de protéines, on y trouve aussi des substances diverses qu'on peut classer en deux catégories:

* *Substances solubles dans l'eau:*

- Protéines enzymatiques qui servent à l'édification des organites.
- ARNr, ARNm et ARNt (10 à 20% de l' ARN total).
- Sucres, acides aminés, nucléotides, composés métaboliques et des ions variés.

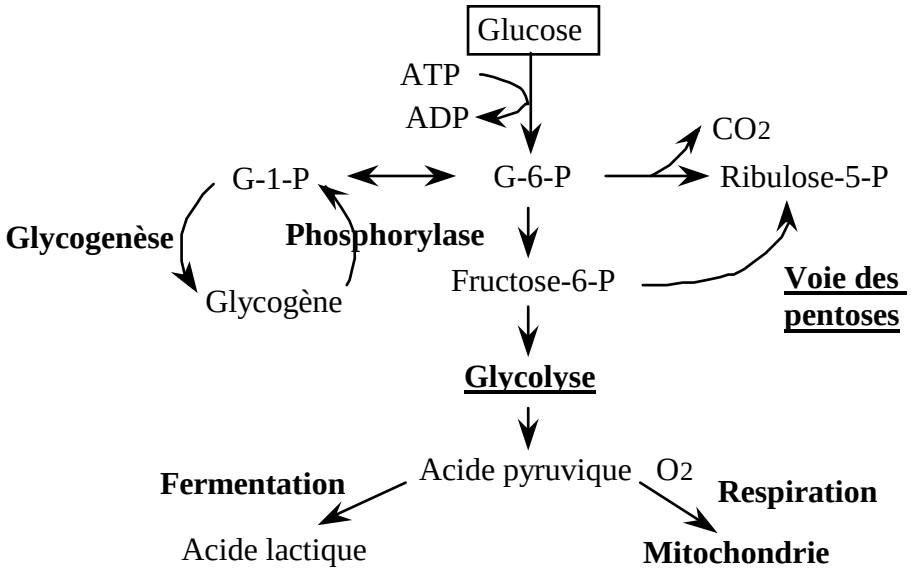
* *Substances insolubles dans l'eau*: Protéines de structure et substances de réserves (globules lipidiques formés de triglycérides et glycogène).

III. Rôles et activités physiologiques de l' hyaloplasme

L'hyaloplasme est un carrefour de nombreuses voies métaboliques d'anabolisme ou de catabolisme. En effet, il constitue une réserve de combustibles et de matériaux de construction solubles (glucose, ..) ou insolubles (glycogène, ..) qui sont nécessaires pour le bon fonctionnement de divers organites.

1. Oxydation du glucose

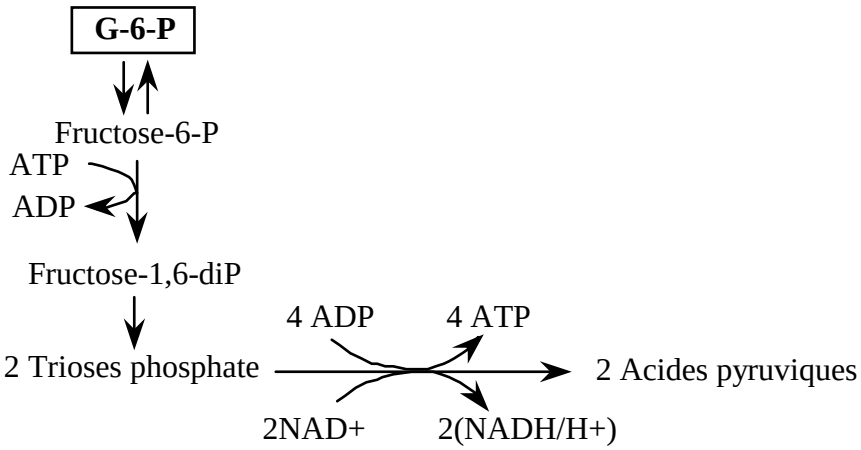
La dégradation du glucose produira l'énergie nécessaire à la régénération de l'adénosine triphosphate (ATP), nécessaire dans tous le systèmes utilisant l'énergie cellulaire. Cette voie métabolique part du glucose phosphorylé en glucose-6-phosphate.



Les formes de dégradation les plus importantes du glucose-6-P sont la glycolyse et la voie des pentoses:

2. Glycolyse: (Voie d'Embden et Meyerhof)

A partir du G-6-P, diverses étapes conduisent à former 2 molécules d'acide pyruvique. C'est un ensemble de réaction anaérobes.



NAD+ = (Nicotinamide adénine dinucléotidique), est un coenzyme transporteur d'hydrogène et d'électrons lors de l'oxydation des molécules énergétiques {nucléotide qui participe avec l'enzyme à la réaction}, en jouant un rôle de transporteur vis-à-vis du substrat, sa forme réduite est: NADH+H+.

Bilan énergétique:

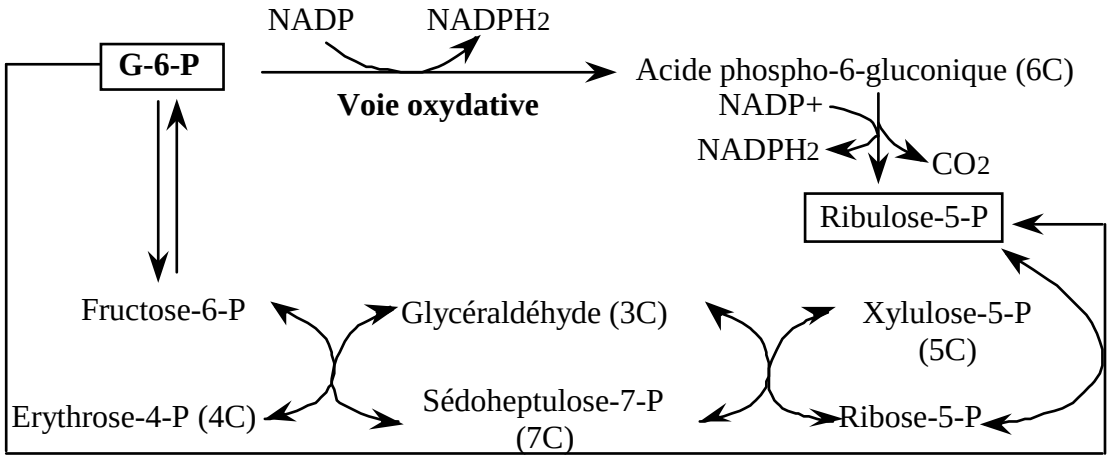
- 3 molécules d'ATP sont gagnées par molécule de G-6-P dégradée, si l'on tient compte d'une molécule d'ATP consommée.
- Formation d'acide pyruvique: substrat nécessaire à la respiration de la mitochondrie.
- Formation de $NADH+H^+$ réduit, qui intervient dans plusieurs synthèses.

L'entretient de la glycolyse nécessite du NAD+. Sa quantité étant très faible dans l'hyaloplasme, il se régénère grâce à l'oxydation de $NADH+H^+$ en présence d'O_2 dans la mitochondrie ou en absence d'O_2 par fermentation (lactique ou alcoolique):

**Dans les cellules musculaires*: Ac. pyruvique ----------> acide lactique (crampe musculaire)
NADH + H+ NAD+

** Dans les levures:* Ac pyruvique ---------> acétaldéhyde ---------->éthanol (industrie)
NADH + H+ NAD+

3. Voie des pentoses



Voie non oxydative

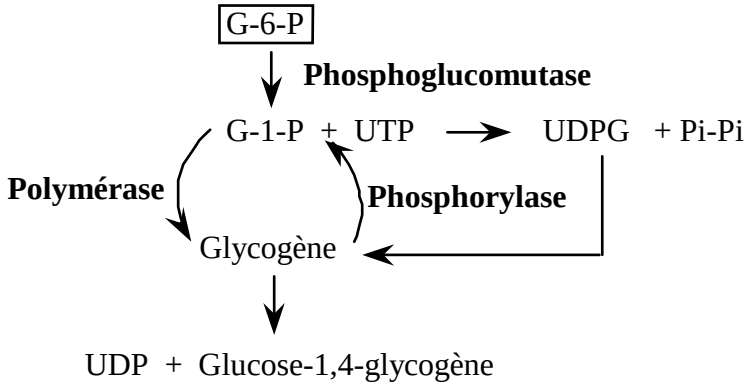
<u>Intérêt de cette voie</u>:

- Production d'un agent réducteur, le NADPH intervenant dans la synthèse des acides gras.

- Obtention de composés intermédiaires (4 ou 5C): sucre C4 (noyaux benzéniques ou indols), Ribose-5-P (nucléotide, ARN).

4. Synthèse du glycogène (Cellules animales)

C'est une voie de stockage du glucose sous forme de réserves de glycogènes non solubles.



UDP + ATP ------> UTP + ADP : réaction pour régénérer de l'UTP.
UTP: uridine triphosphate.
UDPG: Uridine diphosphate glucose.

Le glycogène est la réserve glucidique des cellules animales.

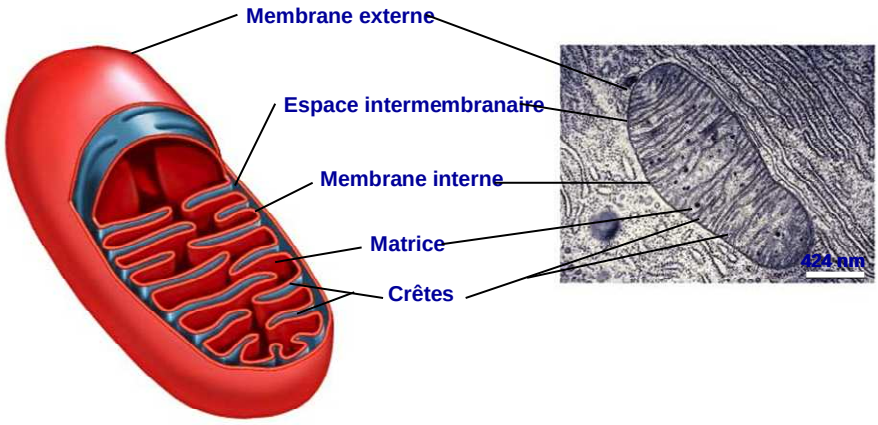
Conclusion

La glycolyse, la voie des pentoses et synthèse du glycogène sont des activités qui peuvent exister simultanément dans l'hyaloplasme, mais dominent différemment suivant les cellules.

Ex. - Les cellules musculaires, principalement la glycolyse.
- Les cellules mammaires, principalement la voie des pentoses.

Chap. IX. Les mitochondries

Structure



I. Caractères généraux

Après traitement des cellules au vert de Janus, celui-ci est oxydé spécifiquement par les mitochondries (= centres d'oxydation) qui deviennent colorés en vert. Elles ont généralement la forme de bâtonnets aux extrémités arrondies de diamètre de 0,5 µm et d'une longueur qui peut aller jusqu'à 7 µm. Certaines sont des granules de 0,3 à 0,5 µm ou même des filaments de 2 à 30 µm.

Le nombre des mitochondries dépend du type de cellules et de leurs activités (inexistants chez les procaryotes). Elles occupent généralement 10 à 20% du volume totale d'une cellule active et sont souvent localisées près des organites actives comme le cils et les flagelles.

II. Ultrastucture

1. Les membranes

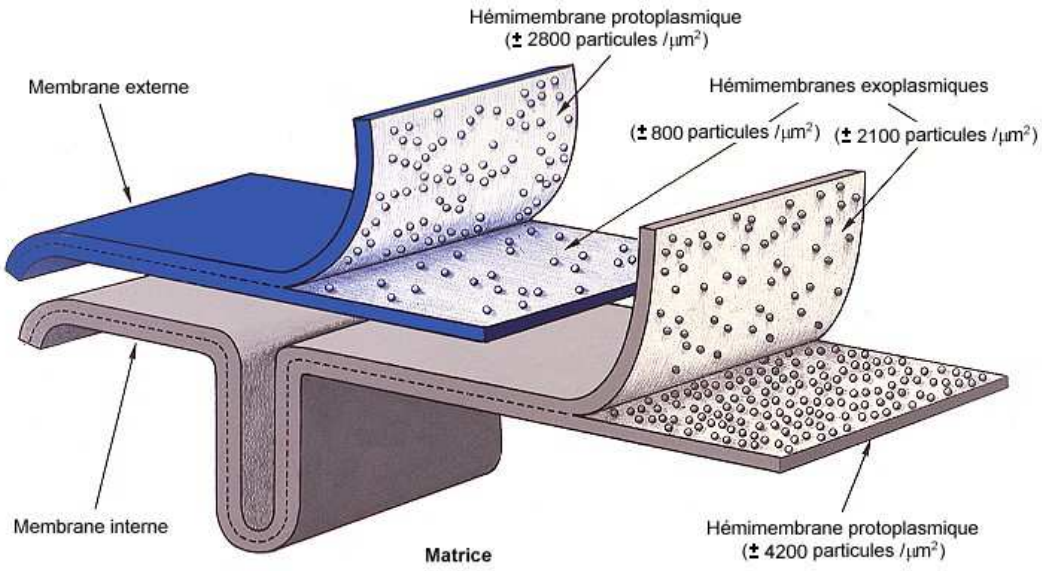
La microscopie électronique a révélé l'existence de deux membranes: une externe de 55 à 60Å d'épaisseur entourant la mitochondrie, séparée de la membrane interne de même épaisseur, par un espace intermembranaire.

a. Membrane externe: enveloppe la mitochondrie et de structure tripartite (1 feuillet osmiophobe entre 2 feuillets osmiophiles). Le feuillet médian est occupé par des particules sphériques dont le diamètre est de 60 à 100Å, ils sont composés de 60% de protéines et 40% de lipides.

b. Membrane interne: également formée de 3 feuillets, plus riche en protéines (80%) et pauvre en lipides (20%). Elle présente des replis ou crêtes mitochondriales, qui s'enfoncent à l'intérieur de la matrice mitochondriale. La membrane interne apparaît recouverte de particules de diamètre 80 à 100Å qui sont des macromolécules ayant une activité ATPasique.

2. La matrice mitochondriale

C'est la substance fondamentale délimitée par la membrane interne et compris entre les crêtes mitochondriales. Elle est de nature granuleuse (30 à 50Å) et riches en cations Ca^{2+}, Mg^{2+}, .. et contient des mitoribosomes (avec de l'ARN) et de l'ADN.



Structure des membranes mitochondriales

D'après E Racker et al., 1969

III. Composition chimique

Les mitochondries sont isolées par les méthodes de fractionnement cellulaire puis leurs composants chimiques sont déterminés (% en poids sec):

- 65% de protéines: en grande partie des enzymes d'oxydations,
- 30% de phospholipides (lécithines et céphalines),
- Des acides nucléiques (ARN et ADN),
- Des cations et des vitamines (A, B_6, B_{12}, C, ...),
- Nucléotides (ADP, ATP, NAD, FAD),
- Eau: 70% (du poids total).

IV. Rôles et activités physiologiques

La fonction majeure des mitochondries est la production d'énergie biologique sous forme d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique. Dans les cellules animales, 80% des besoins en ATP sont assurés par les mitochondries. Cette synthèse est rendue possible par l'énergie libérée au cours de l'oxydation des substrats par le processus de la respiration cellulaire. Les réactions ayant lieu dans la mitochondrie sont :

1. Oxydoréduction respiratoire

La glycolyse, qui commence dans l'hyaloplasme, peut avoir lieu aussi dans les mitochondries: le glucose est ainsi oxydé en pyruvate ou acide pyruvique puis en eau et CO_2 en présence d'oxygène.

$$R\text{-}CHO + 1/2\ O_2 \text{ -----> } R\text{-}COOH$$

a. Transformation du pyruvate: Le pyruvate se transforme en acétyle CoA dans les mitochondries:

$$CH_3\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}COOH + CoA\text{-}SH + NAD^+ \text{ -------> } CH_3\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}S\text{-}CoA + NADH + H^+ + CO_2$$

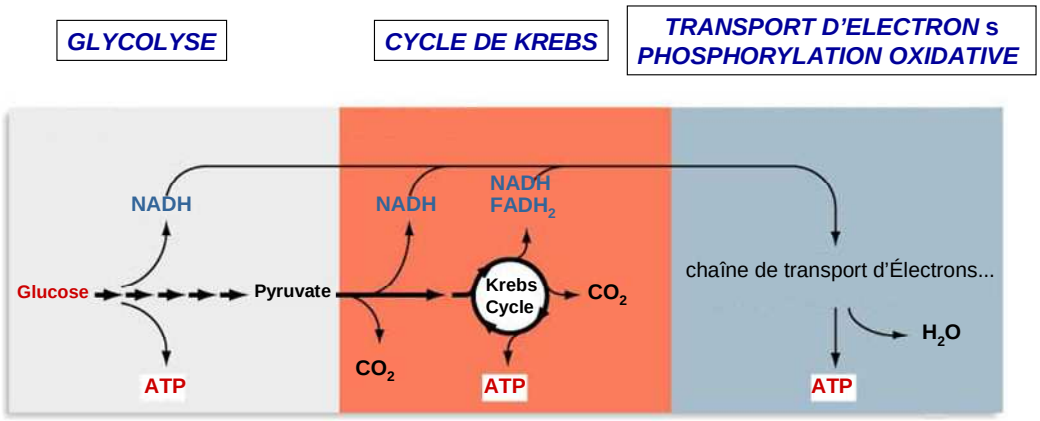
L'acétyle CoA renferme une liaison thioester riche en énergie.

b. Cycle de Krebs: L'acétyle CoA se lie à un substrat à 4C (oxaloacétate) pour former un composé à 6C, l'acide citrique avec libération de 2 molécules de CO_2. Celui-ci est par la suite dégradé dans le cycle de Krebs par des oxydations successives de type déshydrogénase. Il y aura formation de 3 $NADH_2$, 1 $FADH_2$ et 1 GTP. Les coenzymes réduits formés pendant ces étapes vont former l'ATP au cours de la chaîne respiratoire. Les enzymes du cycle de Krebs sont localisés dans la matrice mitochondriale.

c. Chaîne respiratoire: Il s'agit d'une chaîne de transporteurs d'électrons et de transporteurs d'H_2 qui permettent en définitive sa combinaison avec l'O_2 fournit à la cellule. Les enzymes qui interviennent entre l'accepteur initial d'H_2 et l'oxygène constituent un ensemble appelé chaîne respiratoire ou chaîne d'oxydoréduction qui sont localisés dans la membrane interne des mitochondries:

le coenzyme NAD^+ réduit cède l'hydrogène à un coenzyme flavinique FAD, grâce à une déshydrogénase spécifique FMN; le coenzyme FAD fournit les protons H^+ à l'oxygène, le transfert s'arrête à ce stade. Le passage d'électrons de la flavoprotéine à l'oxygène nécessite l'intervention d'une série de transporteurs appelés les cytochromes. Le coenzyme Q peut intervenir entre la flavoprotéine et les cytochromes.

Les trois processus de la respiration cellulaire



2. Phosphorylation oxydative

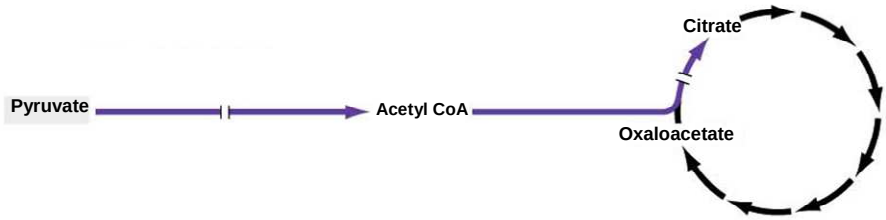
C'est la phase de stockage d'énergie sous forme d'ATP. Cette phosphorylation est couplée avec le transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire; la synthèse d'ATP se fait par phosphorylation de l'ADP.

Pendant le transfert des électrons, les protons H^+ passent dans l'espace intermembranaire qui devient plus acide, les protons reviennent dans la matrice en passant par la base hydrophobe, le pédoncule et la sphère des particules et activent l'ATPase.

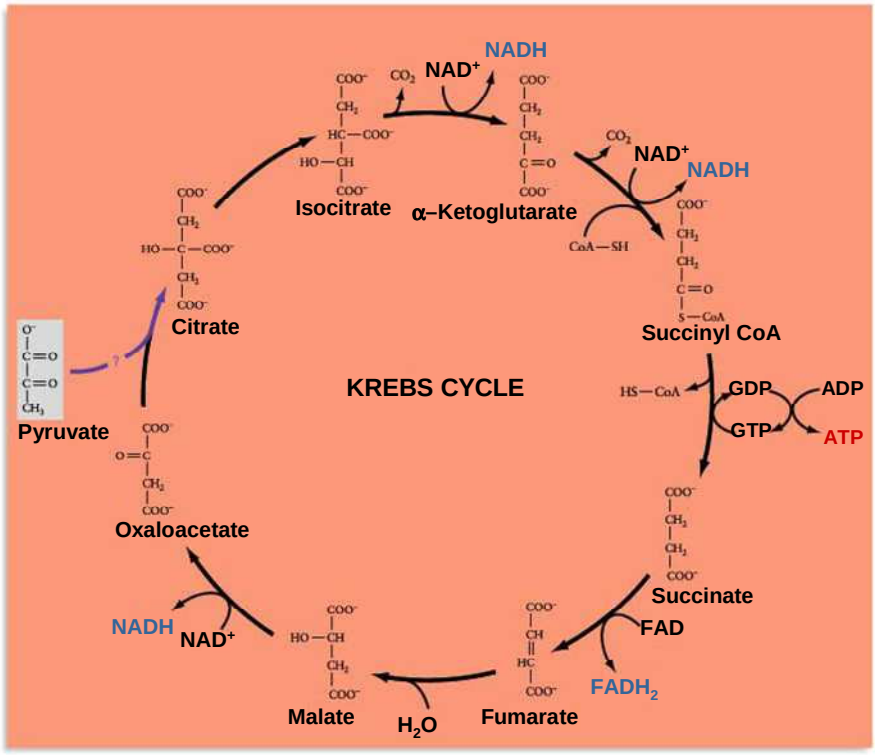
$$NADH + H^+ + 1/2\ O_2 + 3\ ADP + 3\ H_3PO_4 \text{ ------> } NAD^+ + 3\ ATP + 6\ H_2O$$

3 ATP / (NADH + H^+) et 2 ATP / $FADH_2$

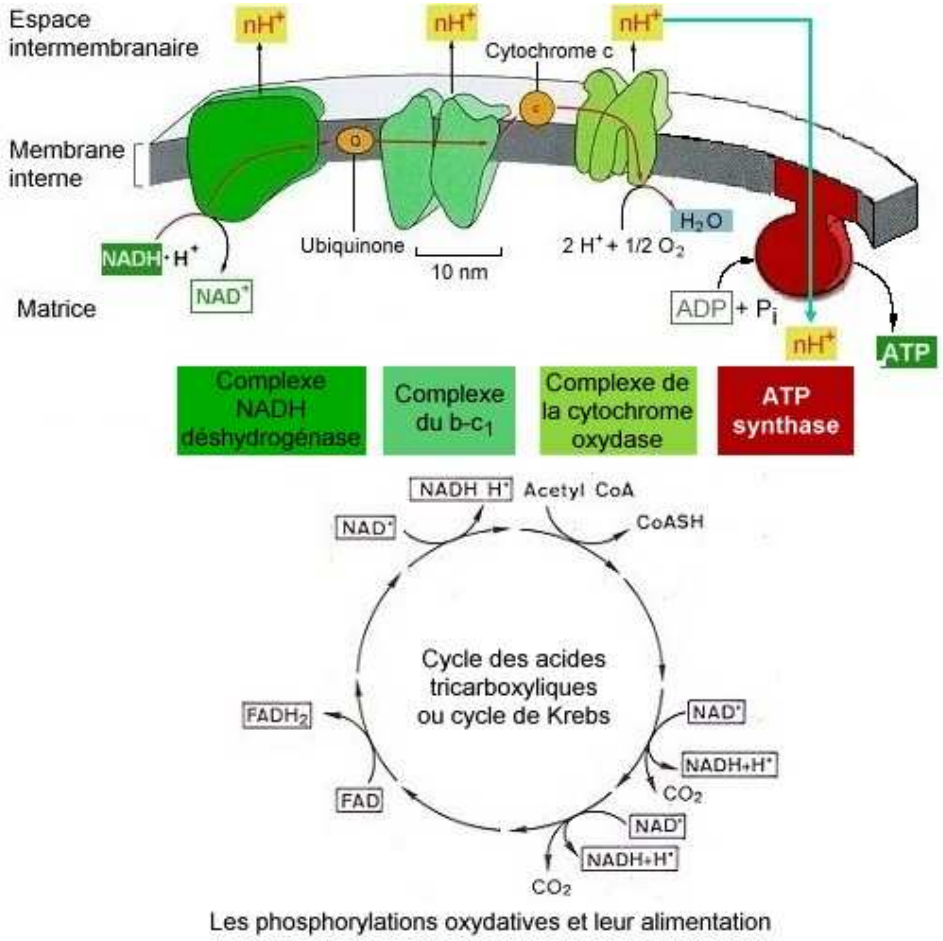
Le Pyruvate est oxydé en acetyl CoA, qui réagit avec De l'oxaloacétate pour commencer le cycle de Krebs.



Krebs propose que les réactions se déroulent en un cycle.



Le métabolisme des macromolécules est lié à la respiration cellulaire: Les stocks de sucres, lipides et protéines peuvent être hydrolysés et utilisés dans la glycolyse et le cycle de Krebs.

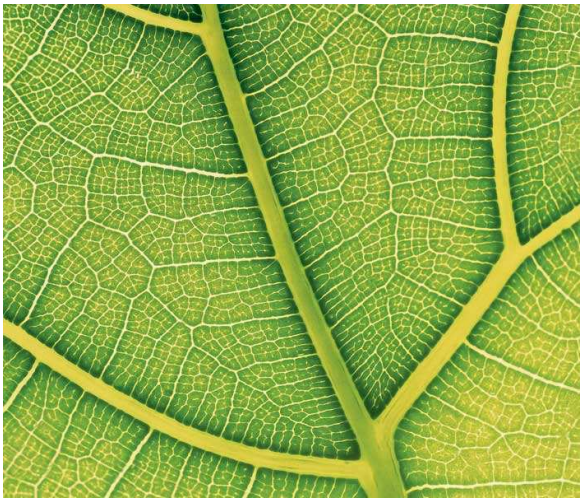


Les phosphorylations oxydatives et leur alimentation

V. Matériel génétique des mitochondries

Dans la mitochondrie il y a plusieurs molécules d'ADN circulaires qui codent pour l'ARN ribosomiale, l'ARN de transfert et un certain nombre de protéines de la membrane interne. La mitochondrie est un organite semi-autonome puisqu'il synthétise une partie de ses propres protéines, mais la majorité de ses composantes sont codées par l'ADN nucléaire.

Chap. X. Les chloroplastes



I. Introduction

Les chloroplastes sont des organites cytoplasmiques qui caractérisent le règne végétal et font partie d'un ensemble de constituants du métabolisme cellulaire appelés les plastes. Les plastes existent en plusieurs sortes:

* Les **leucoplastes**: incolores et contiennent des réserves:
  - Les amyloplastes: réserves d'amidon.
  - Les oléoplastes: réserves de lipides.
  - Les protéoplastes: réserves des protides.

*Les **chromoplastes**: ils contiennent des pigments caroténoïdes qui donnent une couleur rouge orange ou jaune à certaines fleurs et fruits.

*Les **chloroplastes**: ce sont les plus courants et sont caractérisés par la présence de la chlorophylle, un pigment responsable de la couleur verte de la plupart des végétaux.

II. Structure et composition

Les chloroplastes sont en nombre variable suivant les types cellulaires et sont souvent de forme lenticulaire (de 3 à 10 µm de Ø, dans la zone centrale et 1 à 3 µm d'épaisseur).

Chez les végétaux supérieurs: 30 à 50 plastes / cellule: feuille de graminée.
15 à 20 plastes / cellule: feuille de betterave.

Chez les algues inférieurs: 1 plaste / cellule, parfois de forme filamenteuse appelée chromatophore.

Les chloroplastes existent dans les tissus verts des fleurs, des fruits et d'autres organes (racines d'aracées: le philodendron). Les tissus contenant les chloroplastes sont des parenchymes et les cellules stomatiques. La composition chimique générale des chloroplastes est: (% du poids sec)

- Protéines: 40 à 55%;
- Lipides: 25 à 35%;
- Chlorophylles: 8%;
- Caroténoïdes: 4,5 %;
- ARN : 2 à 3 %;
- ADN : 0,5 %.

III. Ultrastructure

La microscope électronique a mis en évidence dans le chloroplaste:

a. Une *enveloppe* formée de 2 membranes de 60 Å d'épaisseur chacune et de structure tripartite, séparées par un espace intermembranaire. Sa composition est de 60 % de protéines et 40% de lipides.

b. *Stroma*: substance fondamentale du chloroplaste, transparente et contient des protéines solubles (50 %), des ribosomes et de l'ADN (100 à 300 molécules circulaires d' ADN/plastes).

c. Les thylakoïdes (thylakos = poche): ce sont des sacs membranaires délimitant un espace intrathylakoïde. Les membranes des thylakoïdes se caractérisent par la présence de particules de 75 à 100 Å de □ appelées quantasomes, qui sont des unités fonctionnelles elémentaires de la photosynthèse. Les *thylakoïdes* peuvent être empilées en:

*Thylakoïdes de **granum**: de petite taille et de forme discoïde (nombre: quelques unes à 50).

*Thylakoïdes de **stroma**: allongées et forment un système de tubules communicant entre eux et reliés aux thylakoïdes granaires.

d. Les *pigments*:

*La **chlorophylle**: ($C_{55}H_{72}O_4N_4Mg$) possède un noyau tetrapyrroliques (hydrophiles) avec un atome de magnésium au centre {dont le rôle n'est pas bien établi} sur lequel est branché une longue chaîne hydrocarbonés.

On distingue 2 types de chlorophylles qui différent par la nature du radical R du pyrrol II.

- Chlorophylle a RII = CH_3
- Chlorophylle b RII = CHO.

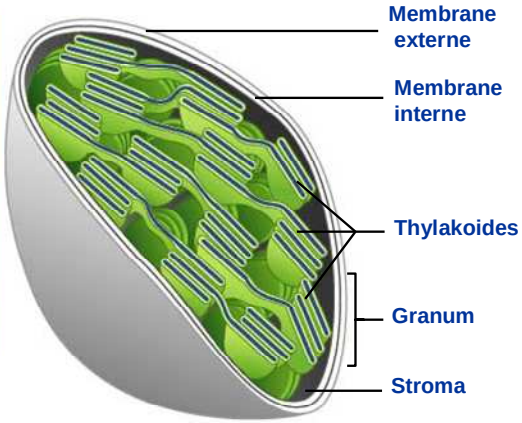
* Les **caroténoïdes**: Ce sont des pigments liposolubles dont la molécule est formée d'une longue chaîne aliphatique avec à chacune de ses extrémités un cycle ionone. On distingue 3 types : □, ß et □ carotènes qui sont des provitamines A (ß carotène = 2 vit A; □ et □ carotène = 1 vit A). Ces pigments sont responsables de la couleur des algues rouges et brunes des phototrophes et de la couleur bleu-vert des cyanobactéries.

Les chloroplastes ont besoin de lumière pour survivre. En effet dans l'obscurité total, les membranes des thylakoïdes et la capacité de synthèse des chloroplastes disparaissent, il y a perte de couleur dû à la disparition des molécules de chlorophylles; c'est l'**étiolation**. (la régression des chloroplastes est appelée étioplastie). Mais après une exposition à la lumière, les membranes des thylakoïdes réapparaissent au bout de quelques minutes, les chloroplastes après quelques heures.

Les chloroplastes, découvert au 19ème siècle, sont des organites semi-autonomes grâce a leur matériel génétique. Ils se multiplient par fission, et pendant la division cellulaire, chaque chloroplaste se divise aussi en deux.

Les chloroplastes

Les chloroplastes sont très structurés, sont des organites riches en membranes.

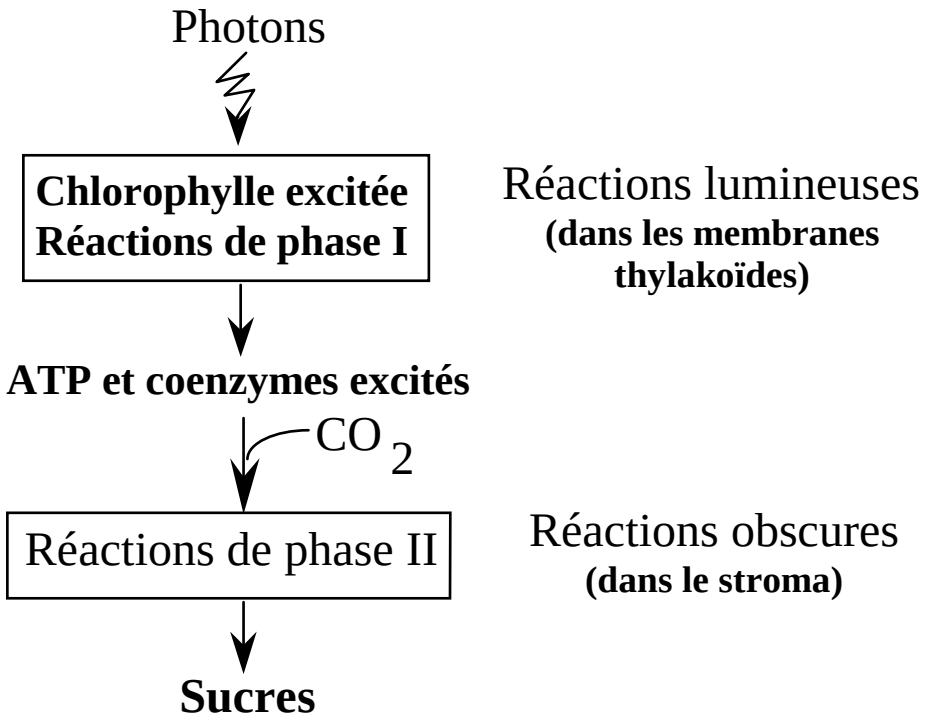


IV. La photosynthèse

Elle se caractérise globalement par la production de glucides à partir du CO_2 avec dégagement d'O_2 en volume égal à celui du CO_2 consommé. L'O_2 dégagé provient de la photolyse de l'eau. L'énergie lumineuse (photons) est captée pour synthétiser les hydrates de carbone après réaction du CO_2 avec les protons issus de l'eau.

$$6\ H_2O + 6\ CO_2 \xrightarrow{\text{Lumière}} C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

La photosynthèse (végétaux et algues) peut se décomposer en 2 ensembles de réactions:



1. Réactions de phase I ou réaction de Hill

Chez les végétaux, l'énergie lumineuse est d'abord captée par la chlorophylle contenue dans les membranes des chloroplastes {absorption des radiations émises dans le bleu-violet et le jaune-rouge, mais pas la lumière verte) alors que chez les organismes phototrophes, se sont les caroténoïdes et les phycobilines qui absorbent la lumière à des longueurs d'onde différentes de celle des chlorophylles.

L'énergie photonique absorbée est captée par une paire d'électrons appartenant de la molécule de la chlorophylle. Les atomes excités sont généralement instable et ont une durée de vie très courte. L'électron excité est transféré depuis la chlorophylle vers une chaîne de transporteurs d'électrons semblable à celle des mitochondries.

Les électrons passent par paire sur le coenzyme NADP+ (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Au cours de ce transfert, les électrons perdent une partie de leur énergie qu'ils ont gagné à la suite de l'excitation photonique. Une fraction de cette énergie est utilisée pour la photophosphorylation de l'ADP en ATP. En résumé, les réactions de phase I sont constituées de 2 photosystèmes I et II et d'une chaîne de transporteurs d'électrons.

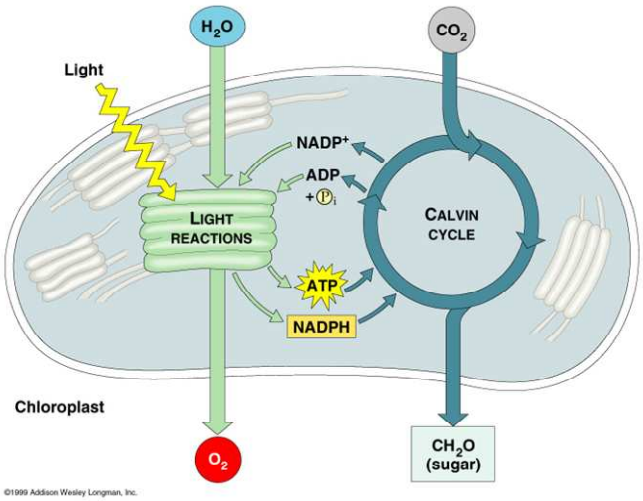
L'ATP et le NADPH + H+ formés par cette phase sont utilisées dans les réactions obscures.

2. Réactions de phase II: Fixation du carbone atmosphérique

Ce sont des réactions lentes qui ont lieu dans le stroma et qui utilisent l'ATP et NADPH + H+ comme sources d'énergie et d'électrons pour la synthèse du glucose après fixation du carbone atmosphérique provenant du CO_2.

Les réactions de cette phase est l'étape clé de la photosynthèse. En effet, le NADPH+H+ et l'ATP formés aucours de la phase lumineuse sont utilisés pour la réduction du CO_2 réalisé par étapes successives dans un cycle appelé cycle de **Calvin**: le CO_2 se fixe sur un accepteur, le ribulose 1,5 diphosphate pour former un hexose diphosphate instable; ce dernier en présence d'eau donne 2 molécules d'acide 3-phosphoglycérique ou APG grâce à la ribulose 1,5-diphosphate-carboxylase (représente 50% des protéines du chloroplaste). La synthèse de glucose se fait à partir de 2 molécules d'APG selon une série d'étapes successives inverses de la glycolyse, l'amidon est synthétisé par la suite à partir du glucose.

La photosynthèse



le bilan global de ce cycle est:

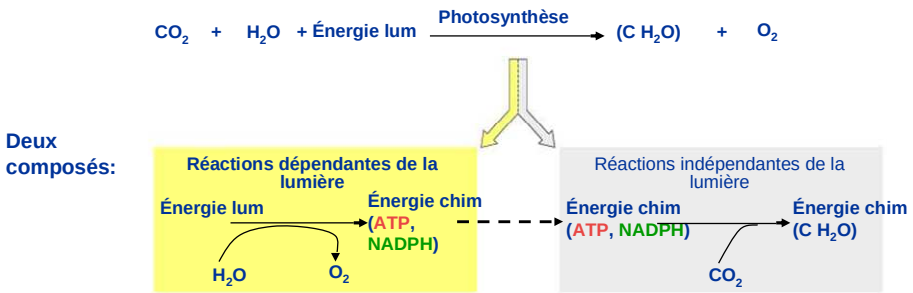
a. Le ribulose 1,5 diphosphate est régénérée, le cycle peut continuer;

b. Chaque fois 6 molécules de CO_2 et 2 molécules intermédiaire à 3C vont donner une molécule de glucose: 1 molécule de CO_2 est fixée à chaque tour du cycle, on aura une molécule de glucose après 6 tours.

Ces réactions sont réalisées en sens inverse lors de la dégradation du glucose qui fournira de l'énergie aux différentes voies métaboliques.

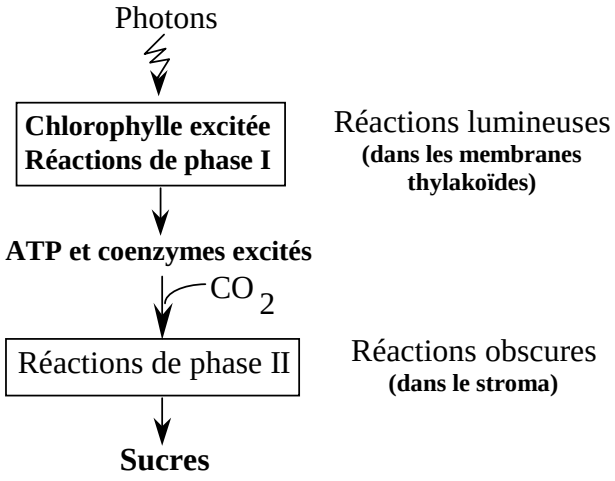
La photosynthèse

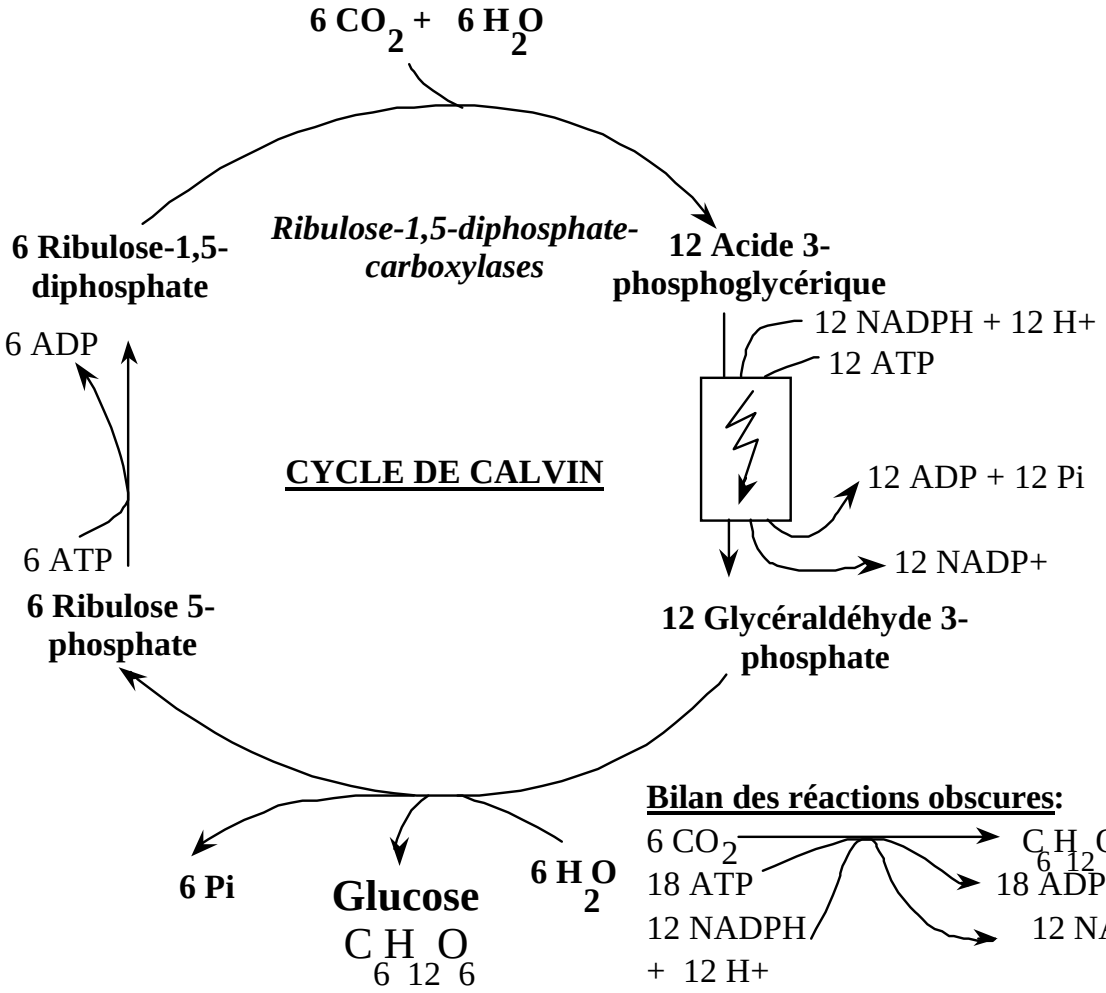
Principale réaction dans la photosynthèse:



La photosynthèse

- **La photosynthèse (végétaux et algues) peut se décomposer en 2 ensembles de réactions:**





Bilan des réactions obscures:

$6\ CO_2$ + 18 ATP + 12 NADPH + 12 H+ → $C_6H_{12}O_6$ + 18 ADP + 18 Pi + 12 NADP+

3. Présence de CO_2 et photosynthèse

Dans l'atmosphère il y a 0,03 % de CO_2 qui est une quantité suffisante pour la photosynthèse. Les plantes peuvent assurer la photosynthèse même à un taux de 0,005 % de CO_2 qui est capté par les pores ou stomates de la couche épidermique des feuilles. Quand la température augmente et l'humidité diminue, les stomates sont fermés ce qui entraîne la diminution de l'évaporation et le CO_2 est insuffisant pour réaliser la photosynthèse. Dans ces conditions, l'enzyme catalyse l'interaction de l'O_2 du CO_2 avec le ribulose 1,5 diphosphate. Il y a donc fixation d'O_2 ou **Photorespiration.** Cet enzyme a plus d'affinité pour le CO_2 que pour l'O_2 même si la concentration du CO_2 est > 20.

4. Les phototrophes deviennent chimiotrophes la nuit

Pendant le jour, l'énergie des photons se transforme en énergie chimique (ATP, NADPH), pendant la nuit, les organismes phototrophes dégradent le glucose pour produire l'énergie, ils deviennent chimiotrophes. L'énergie en excès permet la croissance, la reproduction cellulaire et le stockage des réserves d'amidon.

Chap. II. DIVISION CELLULAIRE

INTRODUCTION

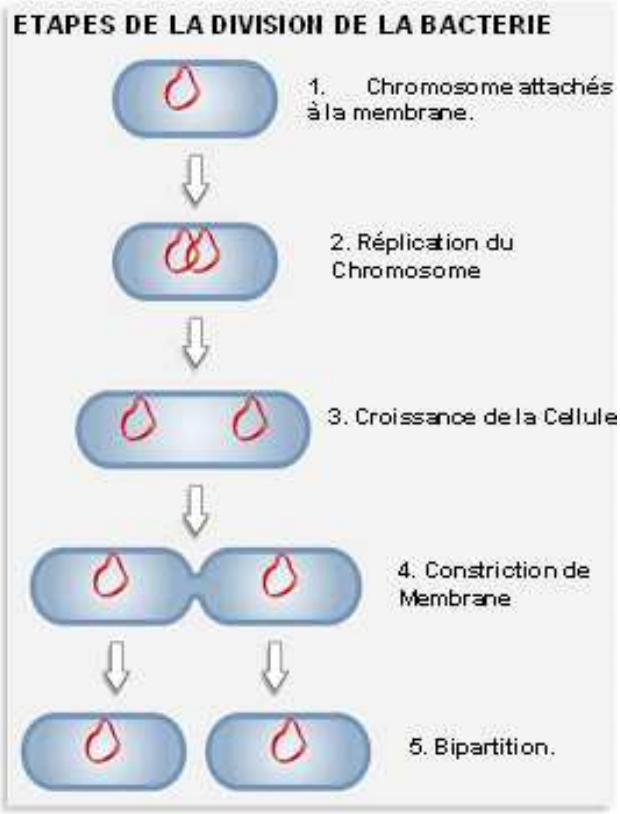
- C'est bien admis que toute cellule provient d'une cellule préexistante ("Omnis cellula e cellula"; Virchow, 1850).
- Études cytologiques multiplication cellulaire selon 3 modalités : Amitose, Mitose, Méiose.

I. L'AMITOSE (a = privatif, mitosis = filament)

- = multiplication cellulaire sans apparition de structures filamenteuses (chromosome) = division directe (Remak, 1841); 2 modes :

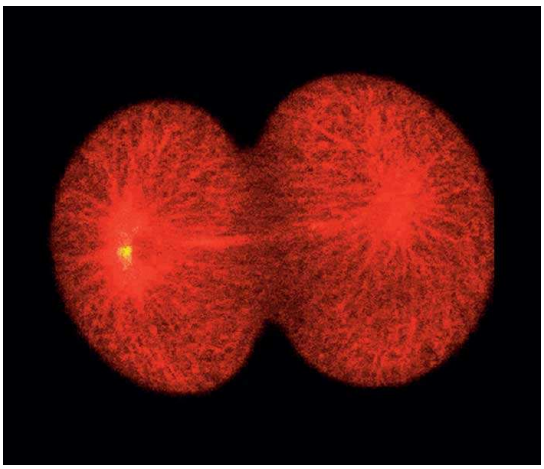
1. Amitose proprement dite : aboutit à la séparation de 2 cellules filles de taille à peu près égales. Le noyau se partage par Étranglement ou clivage.

2. Méromitose : Une petite partie du noyau s'étrangle et se sépare en entraînant une partie du nucléole (Thomas, 1935) → une cellule grande et cellule une petite.



II. MITOSE (Concerne les cellules somatiques)

- = Division indirecte ou caryocinèse : partage égal, équationnel de la chromatine des noyaux cellulaires en 2 lots chromosomiques équivalents.



1- <u>Généralités</u>

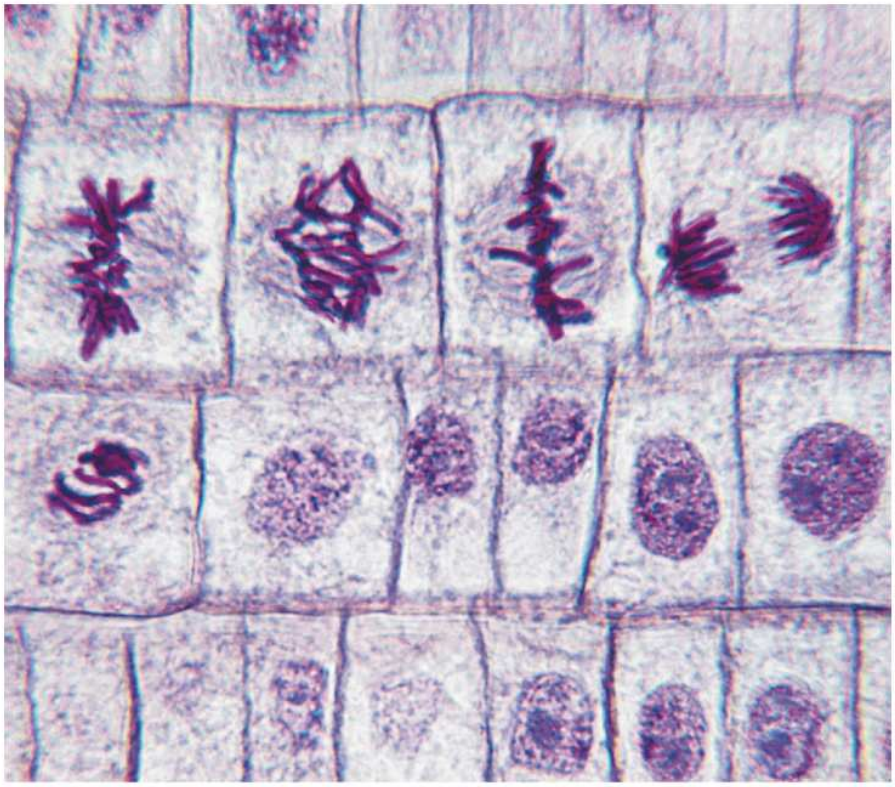
- Le cycle cellulaire commence à la naissance de chaque cellule à la mitose, se poursuit au long de l'interphase et s'achève par une nouvelle mitose ou par l'élimination de la cellule; 4 phases : S → G2 → M → G1 (Fig. 13).
- Grandes lignes de la mitose :

  * Apparition des chromosomes.
  * Clivage longitudinal ou dédoublement des chromosomes.
  * Formation très fréquente d'un <u>fuseau achromatique</u>.

- La mitose est accompagnée de modifications morphologiques importantes affectant les chromosomes, le noyau et le cytoplasme et comporte 4 phases :

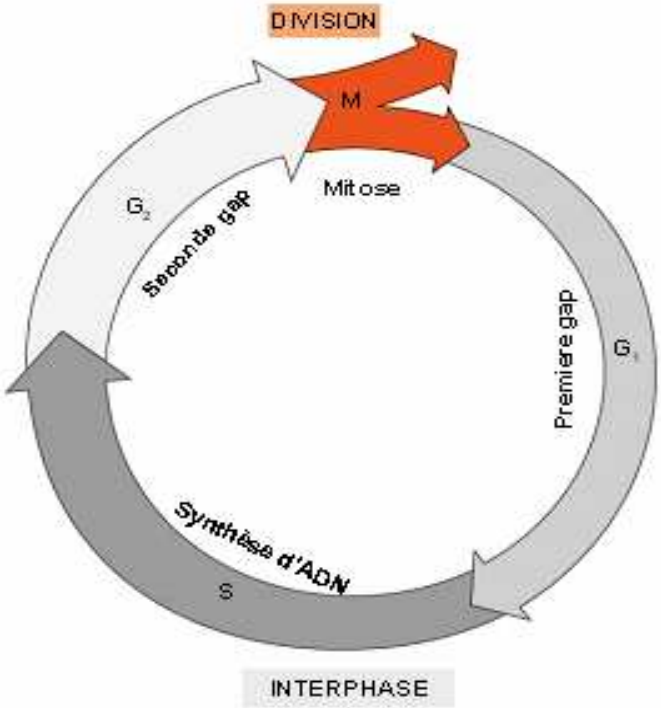
  Prophase → Métaphase → Anaphase → Télophase

2. <u>Les phases de la mitose</u> (voir T.P. et Fig. 26)



3. <u>La durée de la mitose et de l'interphase</u> (voir Figs. 13 et 27)

- Leur durées sont influencées par les conditions du milieu et varient d'un organisme à l'autre et d'un tissu à l'autre.



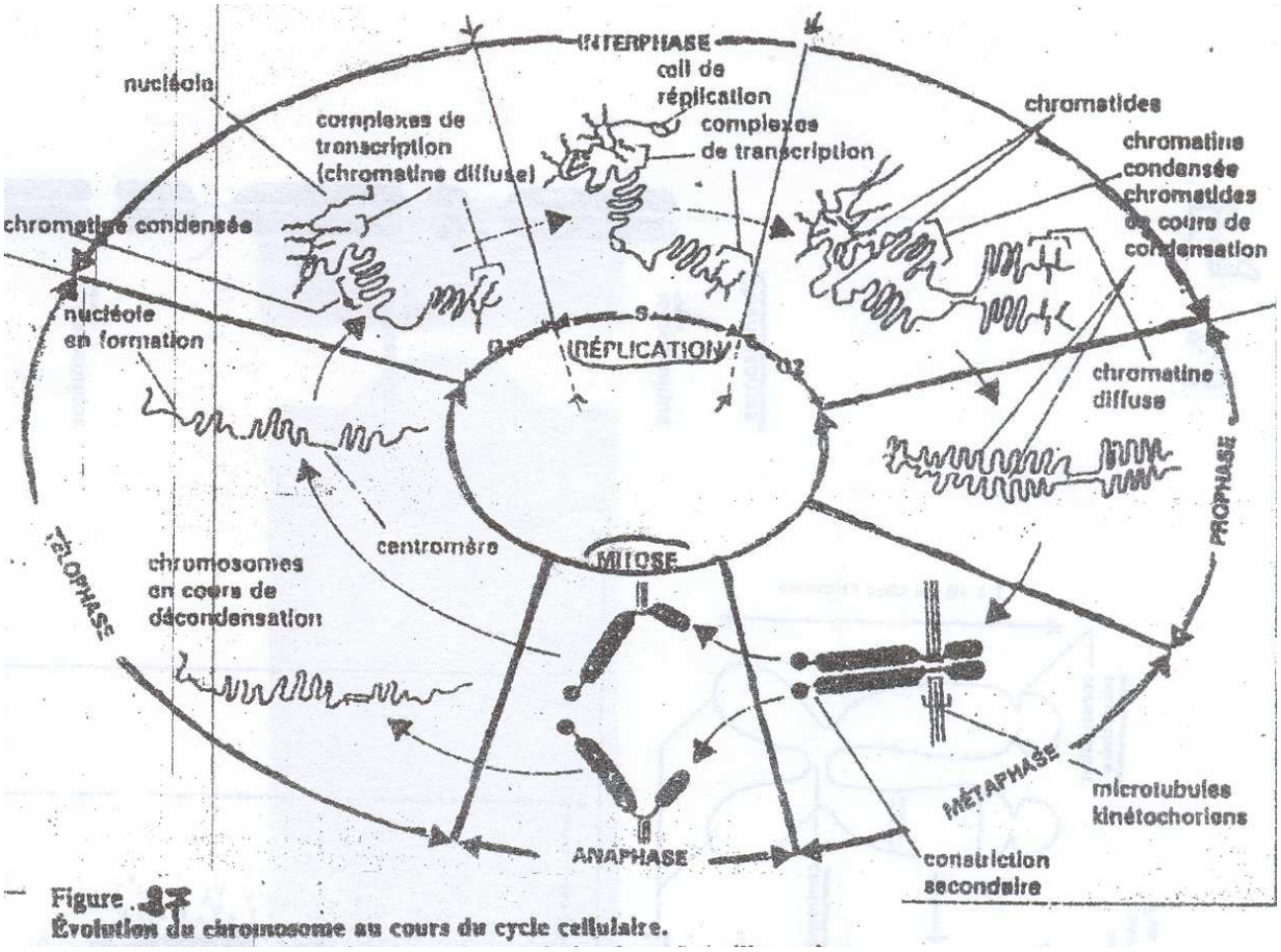
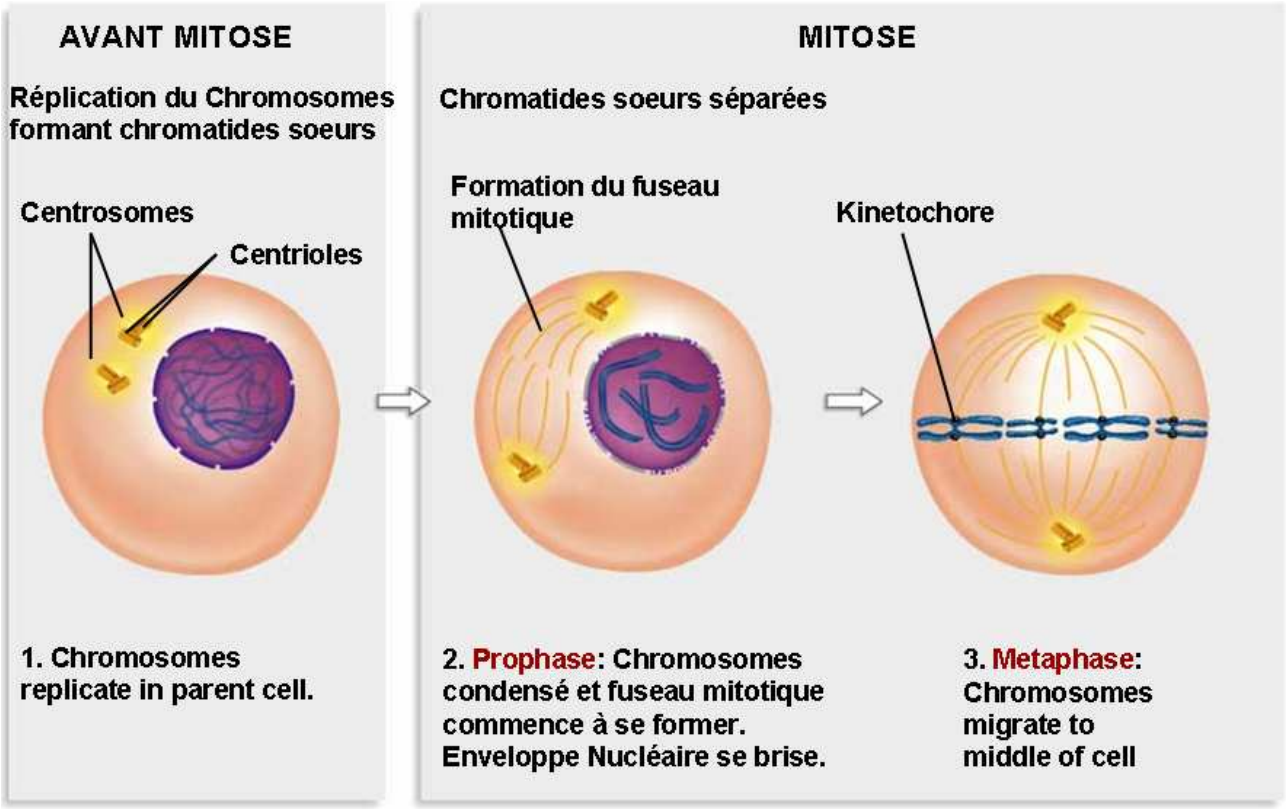
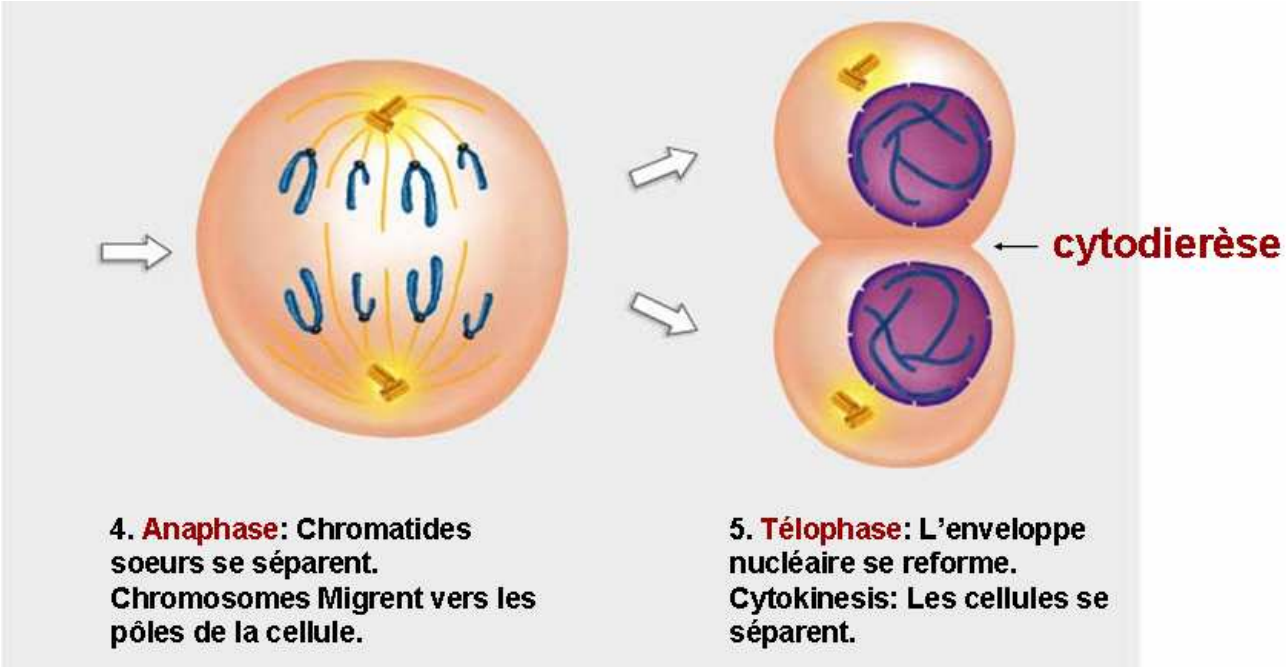
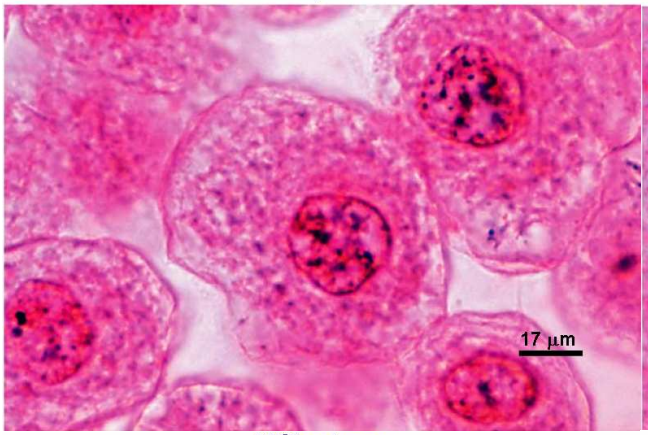


Figure 27
Évolution du chromosome au cours du cycle cellulaire.

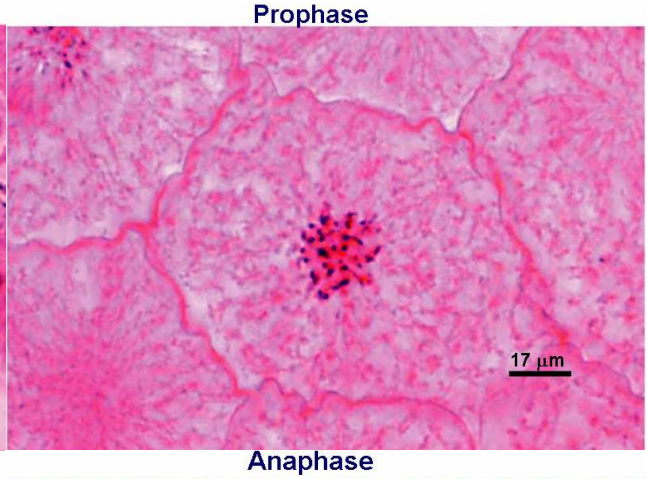

AVANT MITOSE
Réplication du Chromosomes formant chromatides soeurs
Centrosomes
Centrioles
1. Chromosomes replicate in parent cell.
MITOSE
Chromatides soeurs séparées
Formation du fuseau mitotique
Kinetochore
2. Prophase: Chromosomes condensé et fuseau mitotique commence à se former. Enveloppe Nucléaire se brise.
3. Metaphase: Chromosomes migrate to middle of cell


cytodierèse
4. Anaphase: Chromatides soeurs se séparent. Chromosomes Migrent vers les pôles de la cellule.
5. Télophase: L'enveloppe nucléaire se reforme. Cytokinesis: Les cellules se séparent.

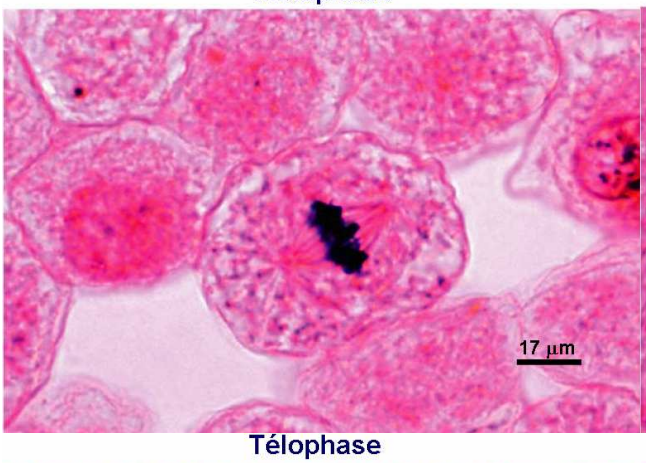
Interphase



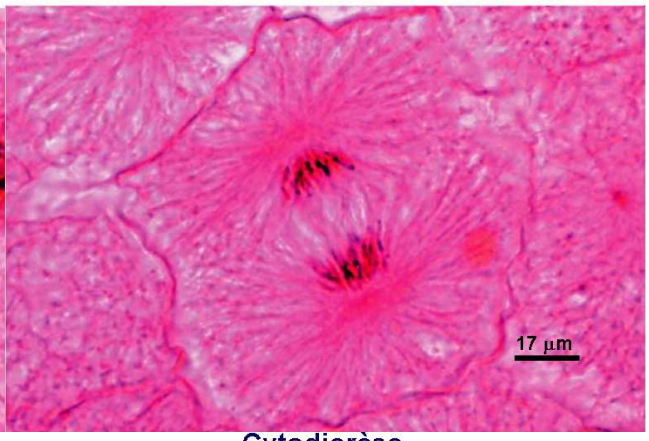
Prophase



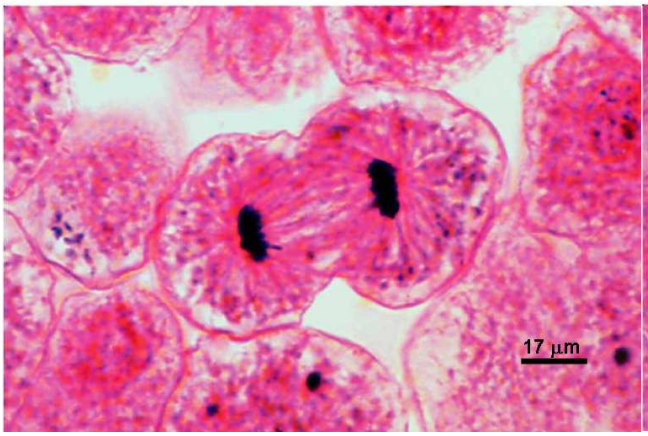
Métaphase



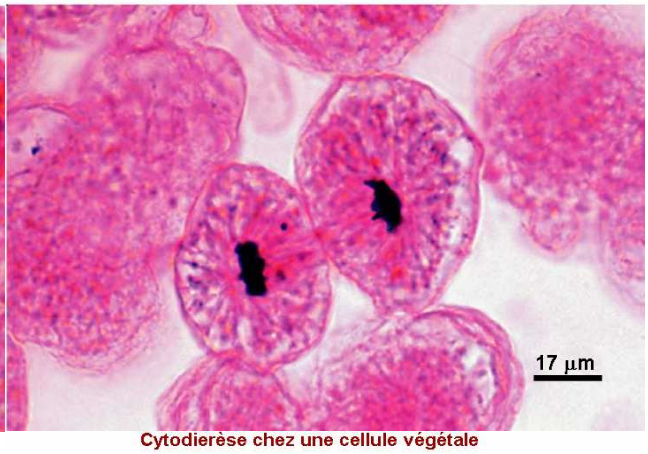
Anaphase



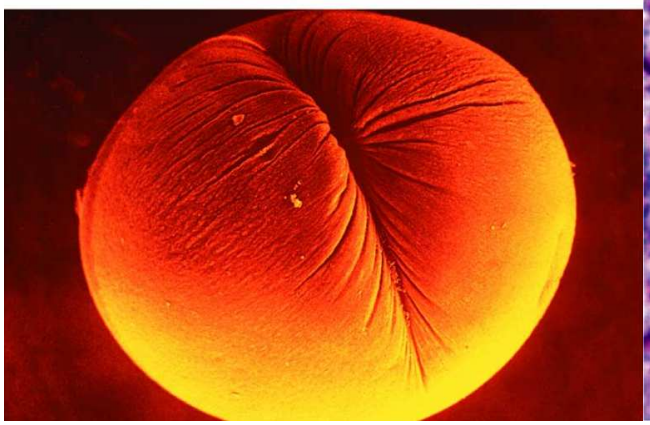
Télophase



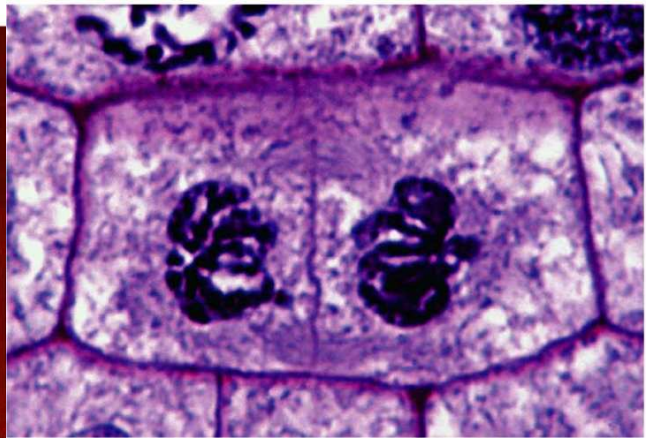
Cytodierèse



Cytodierèse chez une cellule animale

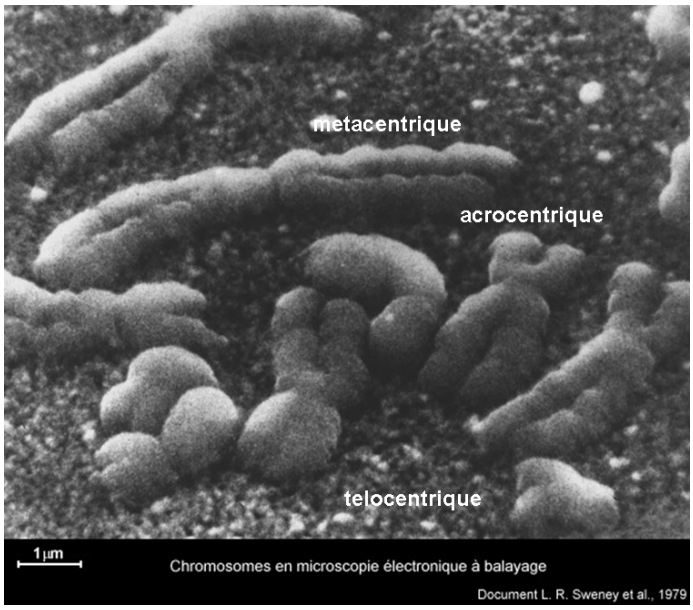


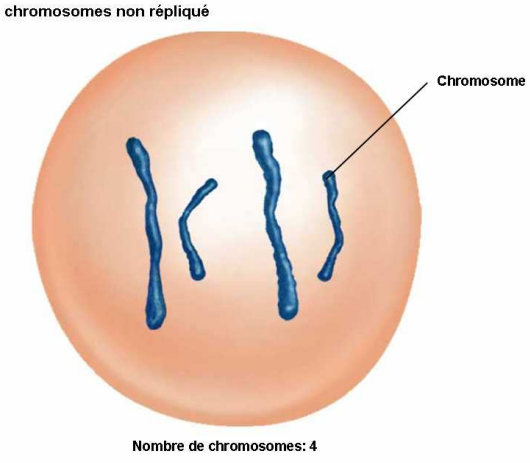
Cytodierèse chez une cellule végétale

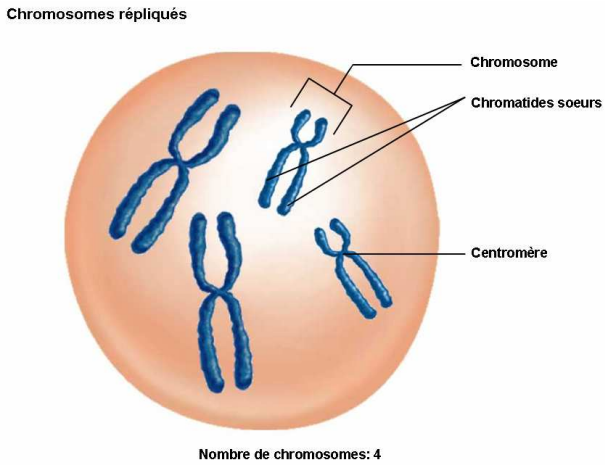


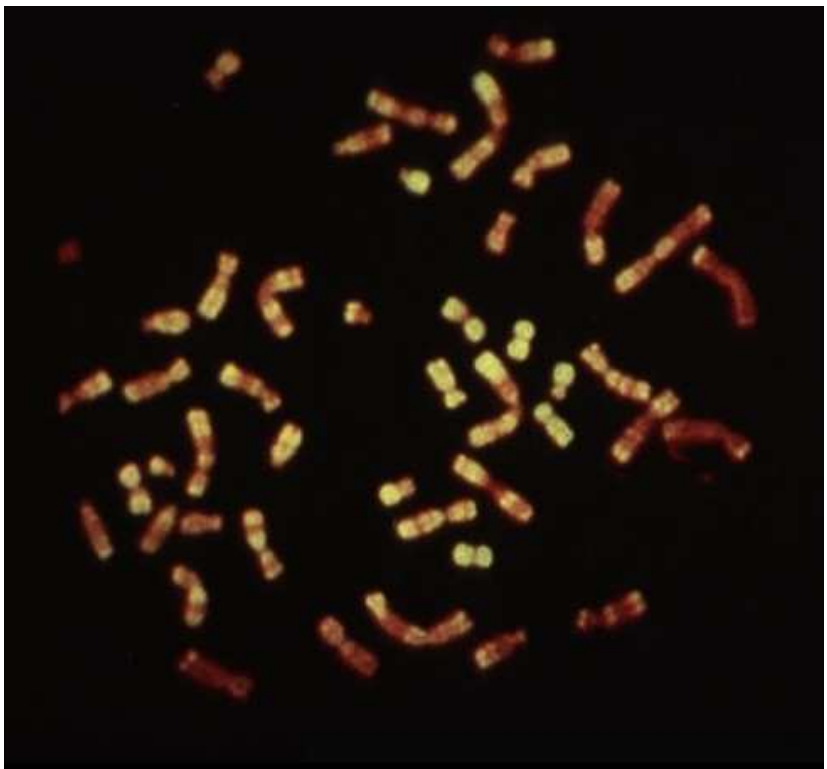
4. Les chromosomes

- Le nombre de chromosomes par cellule varient selon l'espèce [Bactérie (1), Homme (46), Souris (40), Poulet (78), Drosophile (8), Maïs (20)].
- Dans les cellules humaines (46 chromosomes), les molécules d'ADN dans les 23 chromosomes ne sont pas toutes identiques en taille et en forme (Fig. 28). Le nombre et la forme d'une cellule définissent le CARYOTYPE.



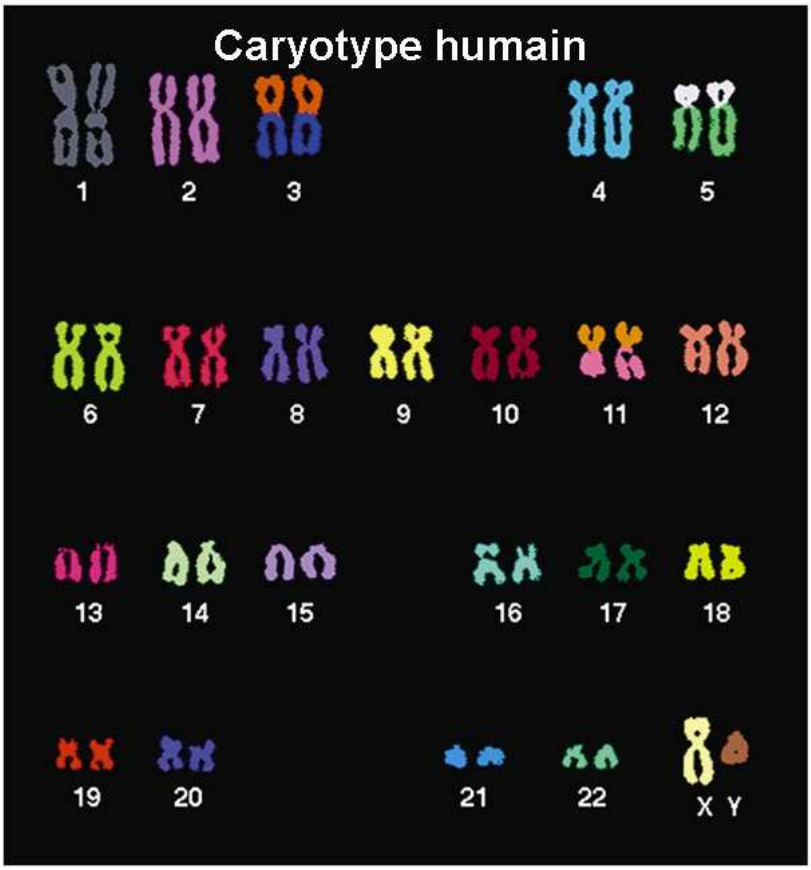






Chromosomes humains en fluorescence

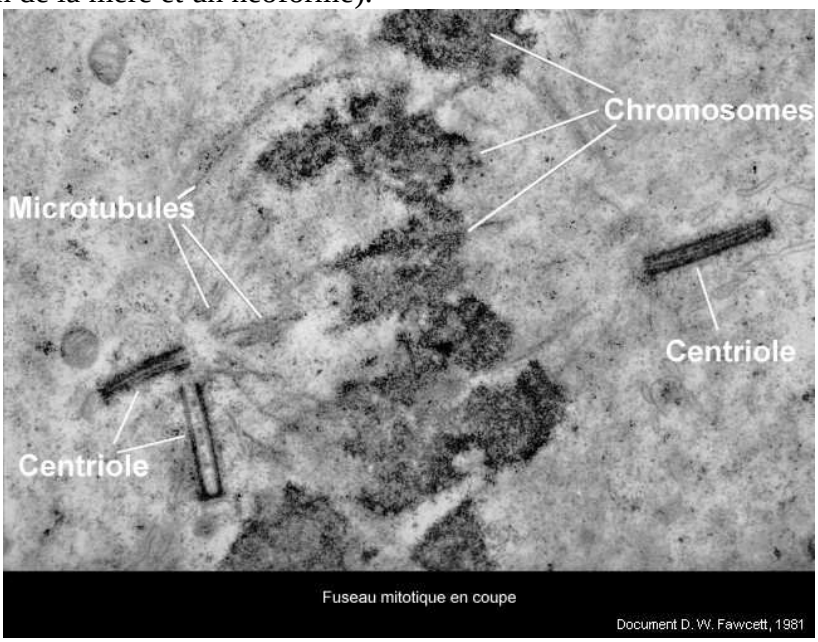
Document M. Bobrow et K. Madan, 1973



5. <u>Les centrioles</u> (voir Fig. 26)

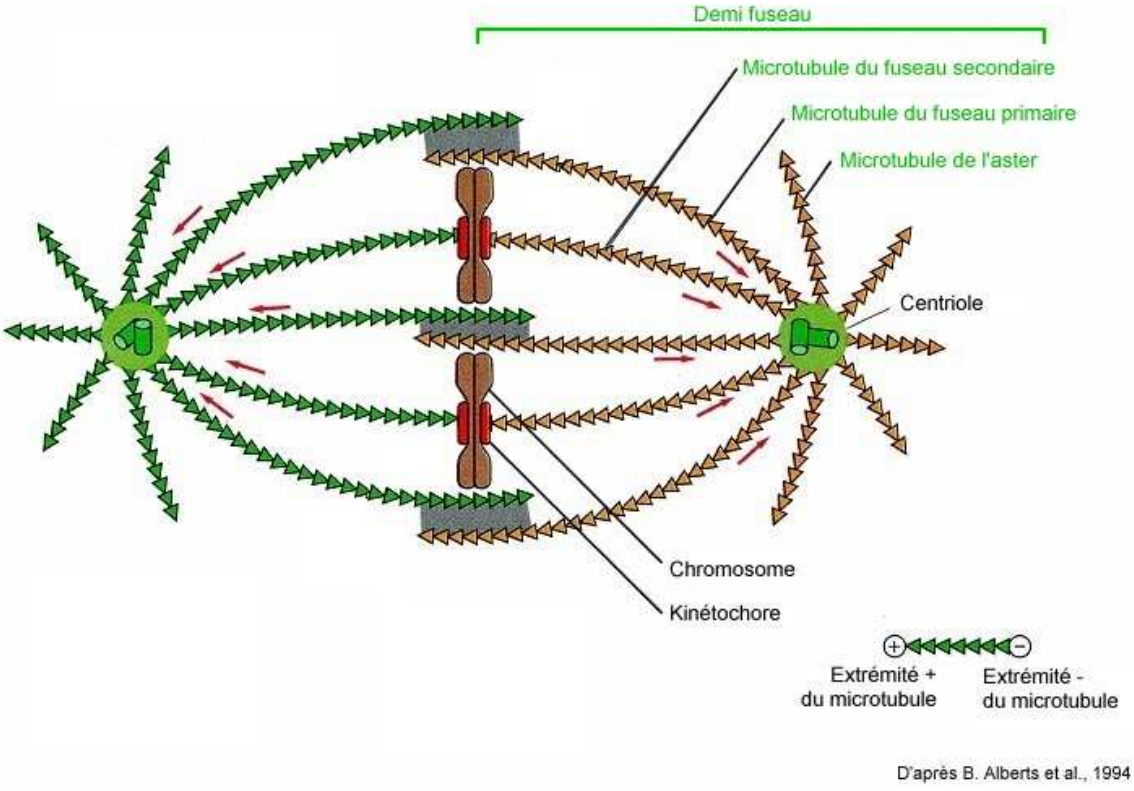
- La plupart des cellules animales et certains végétaux inférieurs (Algues et champignons), renferment un <u>centrosome</u> au voisinage du noyau (au mic. photonique granule entouré d'une zone

moins colorable, le centrosphère).
- Mic. électronique: centrosome formé de 2 structures cylindriques = centrioles (0,5 µm de longueur et 0,15 µm de diamètre), dont l'ensemble forme le diplosome. À la périphérie sont disposées 9 fibrilles = fibres astériques.
- Pendant le mitose, les centrioles se déplacent aux pôles du fuseau achromatique et chaque cellule fille en reçoit 2 (un de la mère et un néoformé).



6. Le fuseau achromatique

- Fibrilles rectilignes, non ramifiées, de structure tubulaire (Φ 150 à 200°A) et sont en nombre de 500 à 600 par fuseau.
- Ce fuseau assure la séparation de 2 lots équivalents de chromosomes lors de l'anaphase grâce à la contraction des fibres fusoriales.



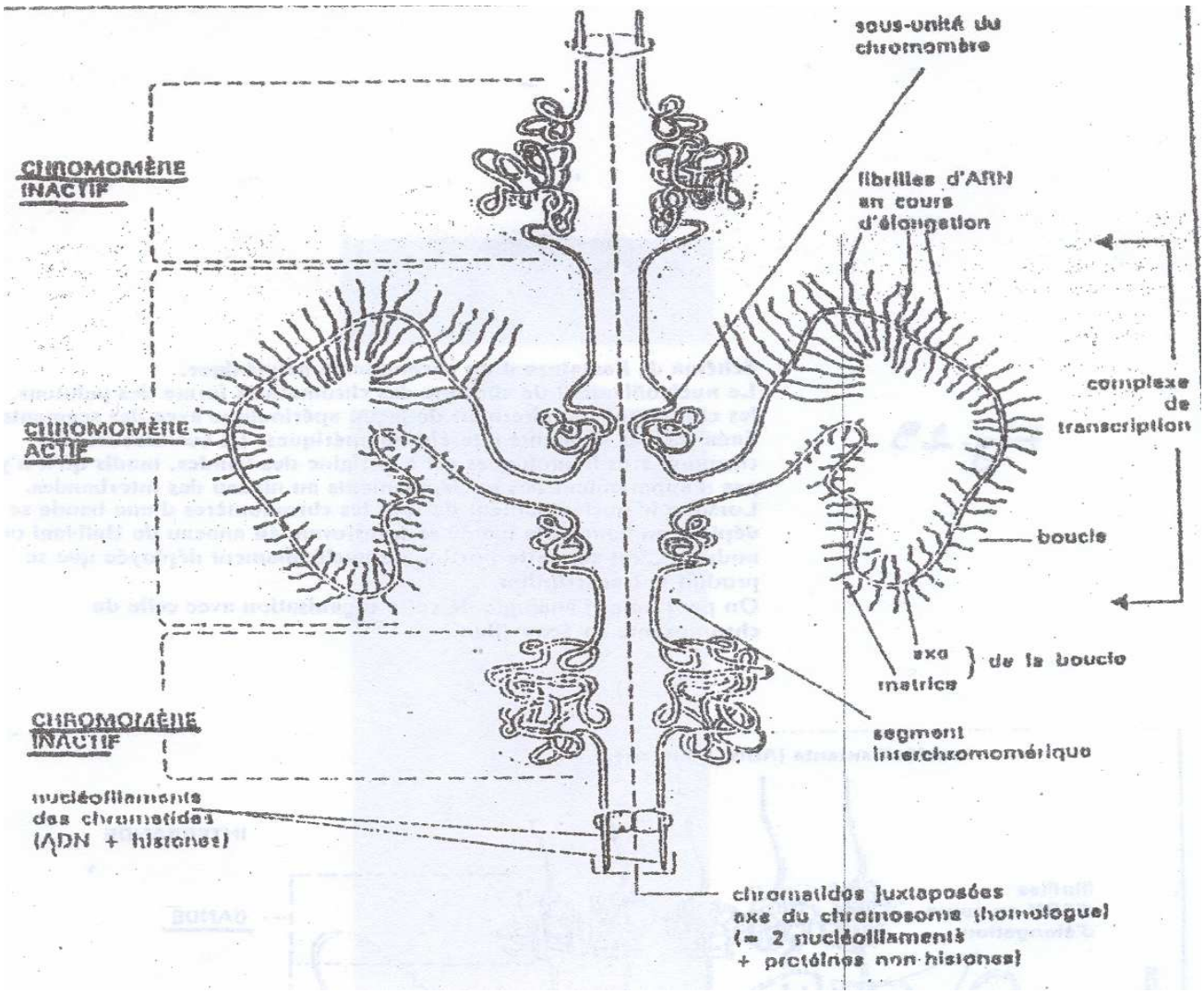
7. <u>Endomitose</u> = multiplication du nombre de chromosomes sans division du noyau cellulaire, 2 aspects :

7. 1. <u>La polyploïdie</u>

- Résulte du blocage en métaphase (pas de fuseau achromatique) : les chromosomes divisés restent groupés (la colchicine -drogue- la polyploïdie).

7.2. <u>La polyténie</u>

- Mitose arrêtée au début de la prophase : divisions successives et chromatides filles (<u>non spiralés</u>) restent associés parallèlement en faisceaux (chromosomes géants, Fig. 29).
- Cas particulier : Chromatides soeurs juxtaposés chromosome plumeux ou en <u>écouvillon</u> (Fig. 30) observé au stade diplotène chez les ovocytes.

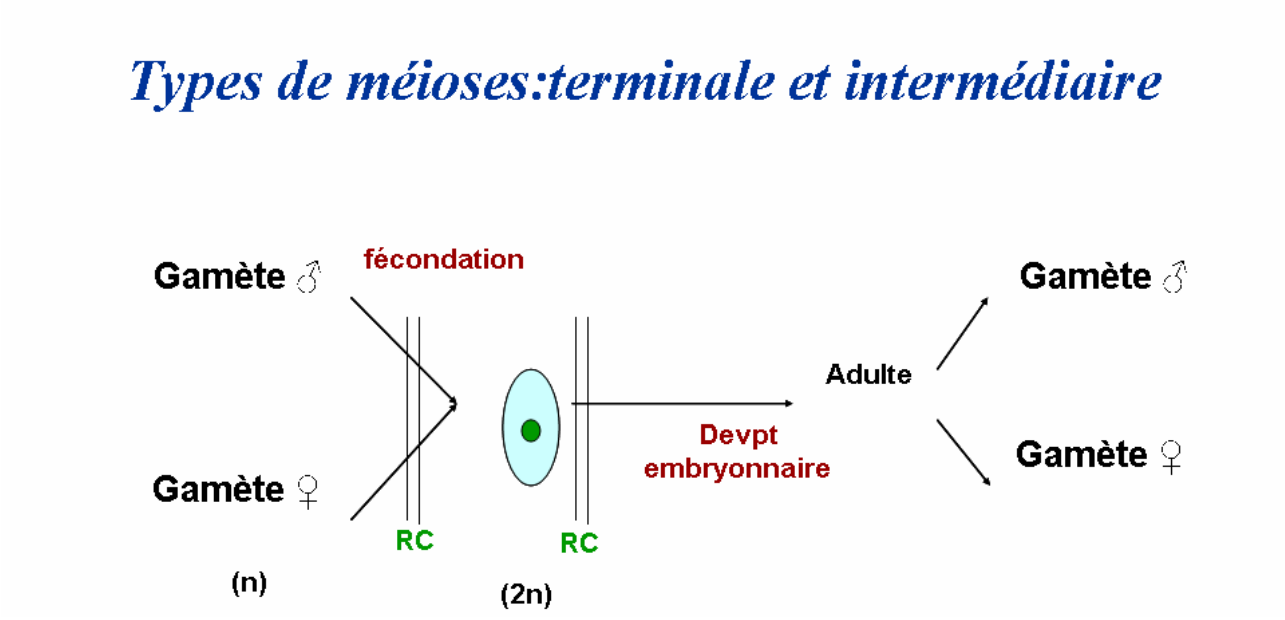


III. <u>LA MÉIOSE</u>

- Se produit chez les êtres vivants ayant une reproduction sexuée : union de 2 gamètes (mâle et femelle) → zygote et où une réduction chromatique, par la méiose, est nécessaire pour réduire de moitié le nombre des chromosomes dans les gamètes.

* <u>Méiose terminale ou gamétique</u> : réduction juste avant la fécondation (animaux -sauf les protozoaires- et de rares végétaux).

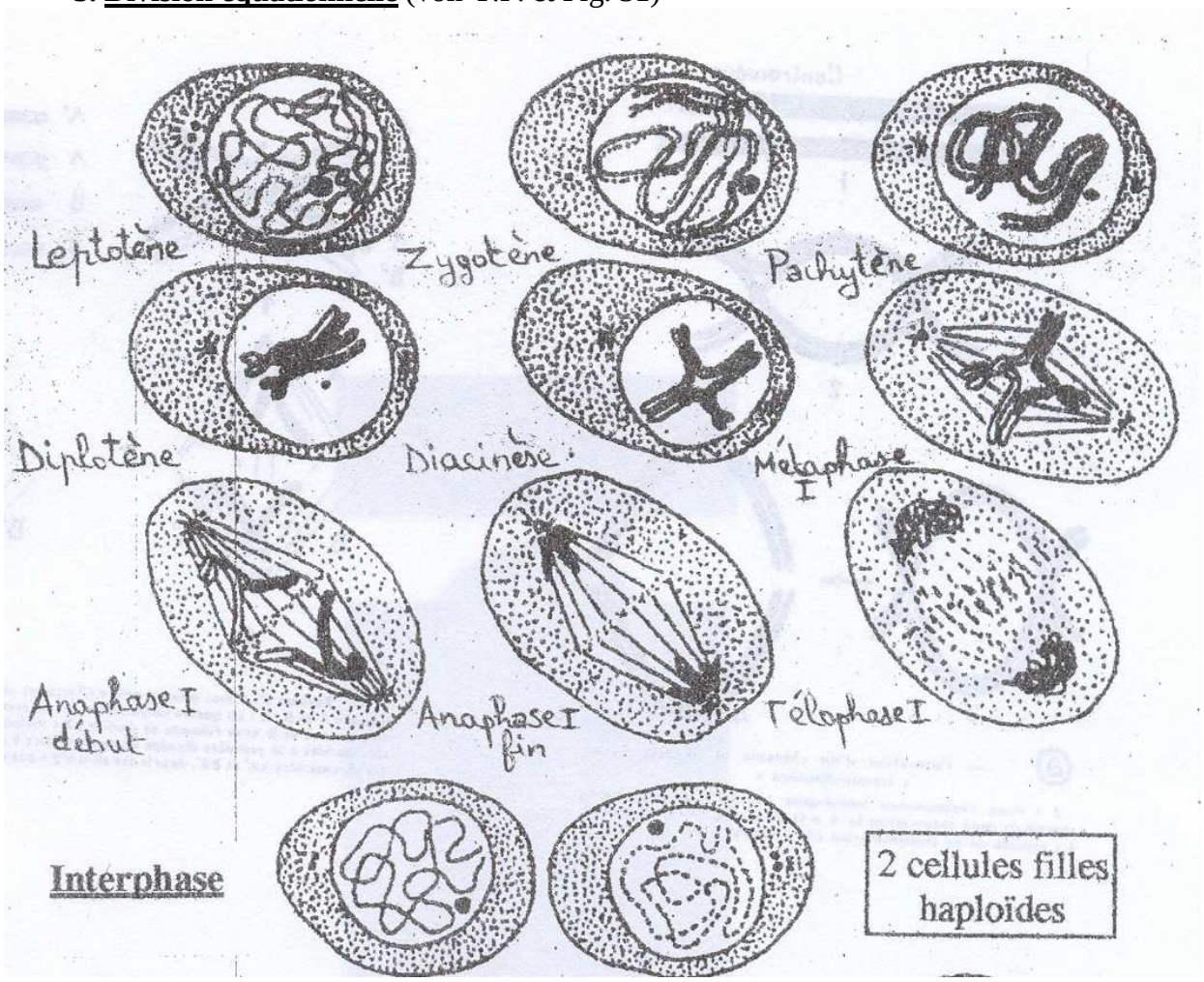
* <u>Méiose intermédiaire ou sporique</u> : réduction après fécondation mais bien avant la formation des gamètes(certains végétaux inférieurs).



- La méiose comprend 2 divisions successives :

2. <u>Division réductionnelle</u> (voir T.P. et Fig. 31)

3. <u>Division équationnelle</u> (voir T.P. et Fig. 31)



✍ La prophase I est la plus caractéristique de la méiose → 5 stades :

a. <u>Stade leptotène</u> (leptos = grêle; teino = étendre)

- Noyau peu gonflé; chromosomes allongés non spiralés et grêles; chromatides soeurs déjà visibles et état diploïde (2n).

b. <u>Stade zygotène</u> (zygos = union ou couple)

- Appariement (synapsis) des chromosomes homologues paternels et maternels : formation de dyades ou bivalents.

c. <u>Stade pachytène</u> (pachus = épais)

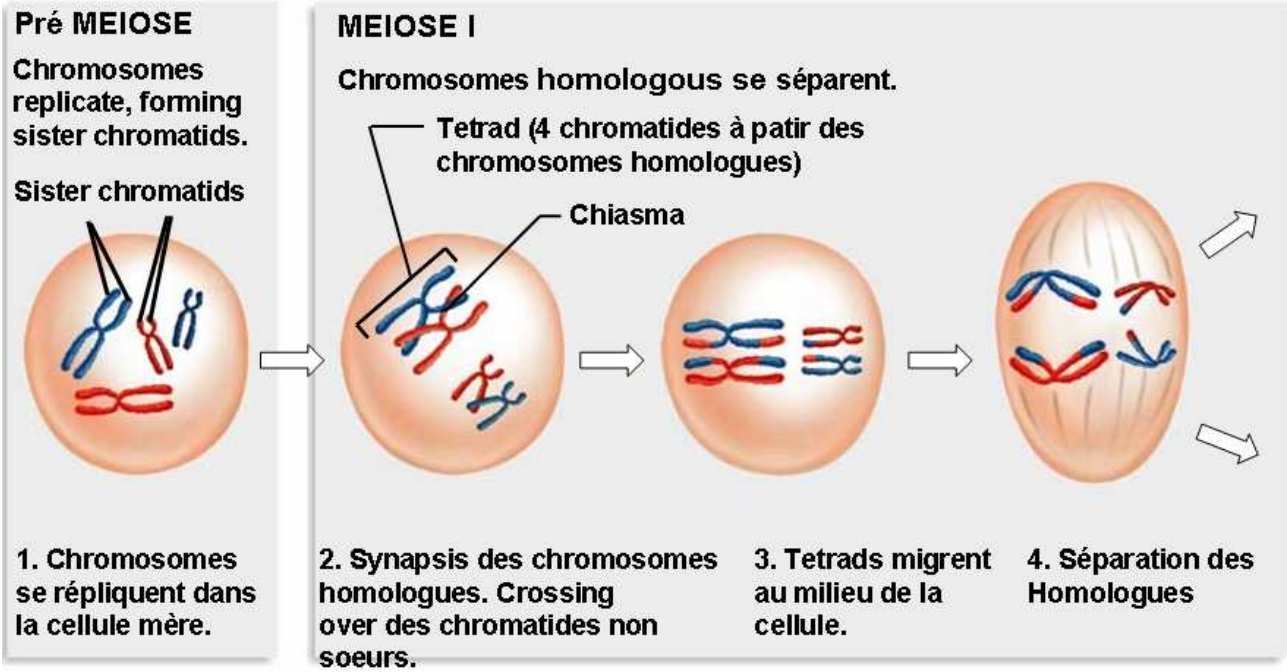
- Contraction des chromosomes (spiralisation et épaississement) et dédoublement des chromosomes appariés en chromatides (nombre de 4) encore liés au centromère : stade le plus long.

d. <u>Stade diplotène</u> (diplos = double)

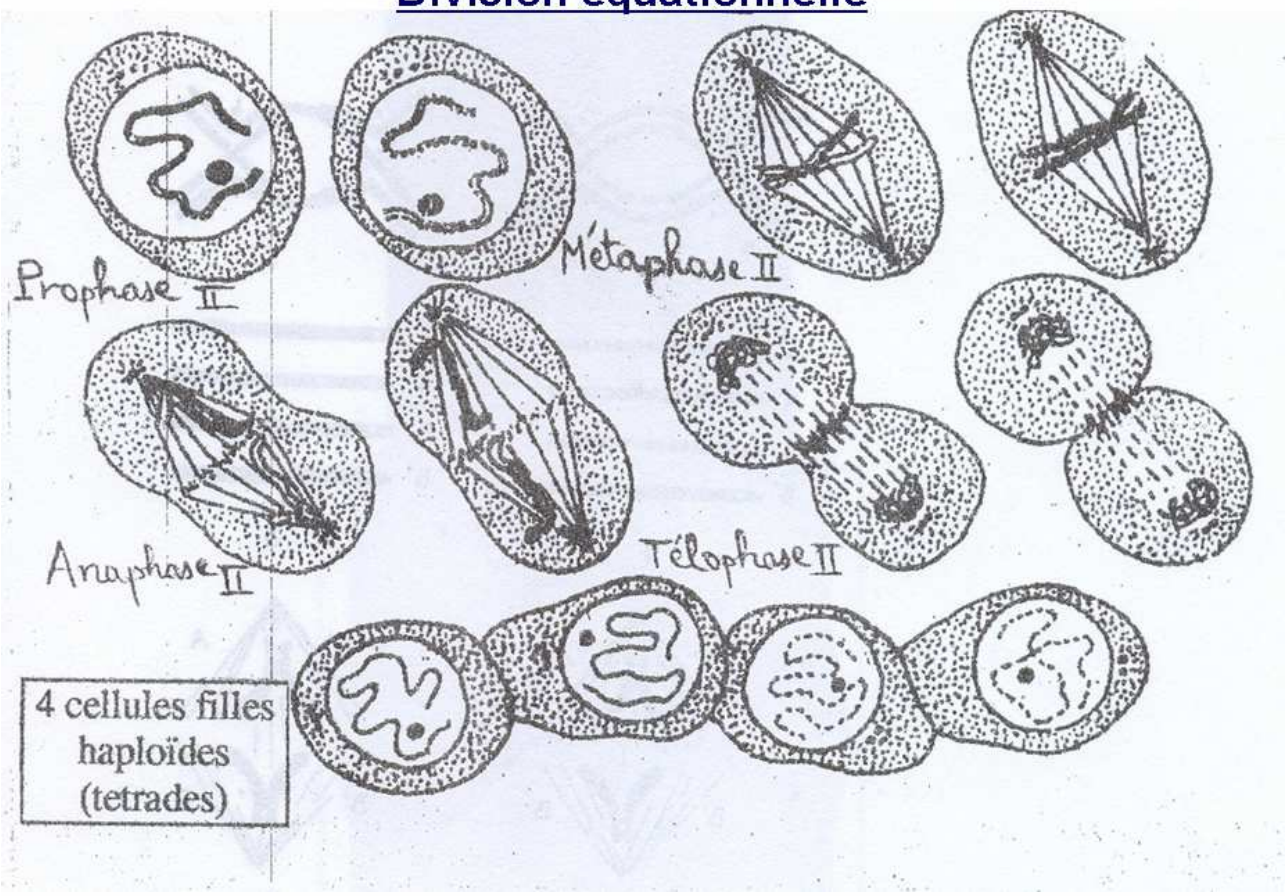
- Chromosomes tendent à se séparer et attachement an niveau des chiasmas → possibilité d'échange de fragments = <u>crossing over</u> (C.O., Fig. 32).
- Les 2 chromosomes homologues = 4 chromatides ou tétrades (à 2 centromères; nombre de tétrades = nombre chromosomique haploïde).

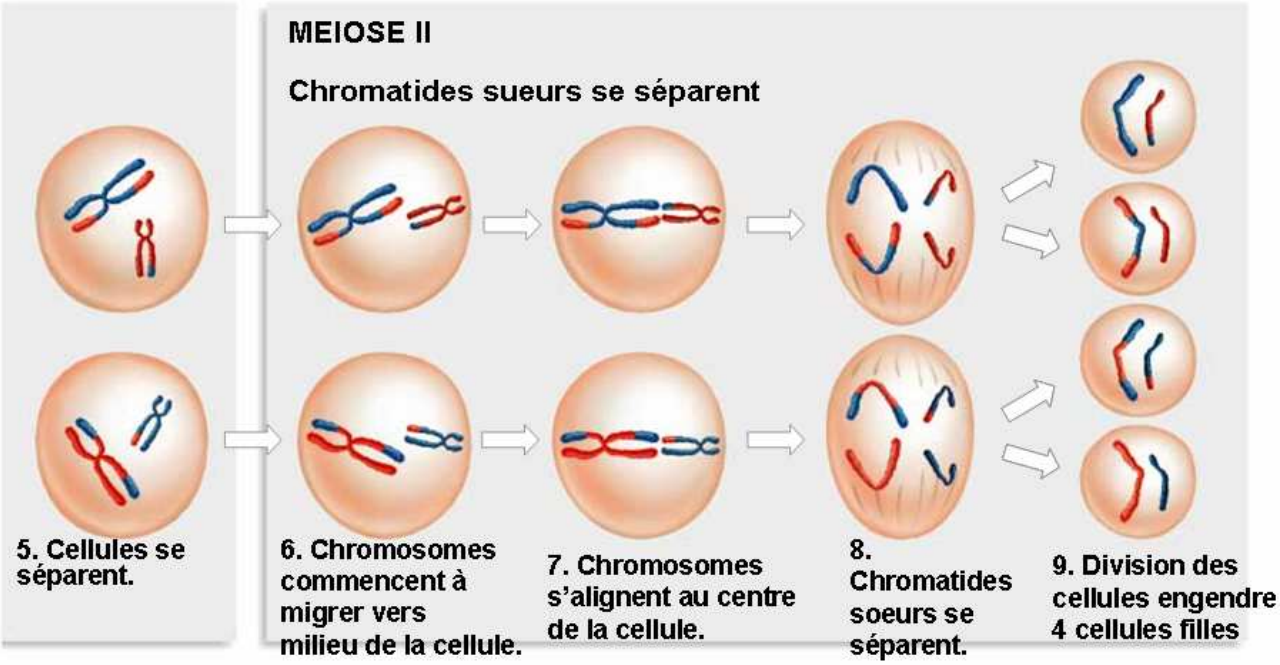
e. <u>Stade diacénèse</u> (dia = à travers, kinesis = mouvement)

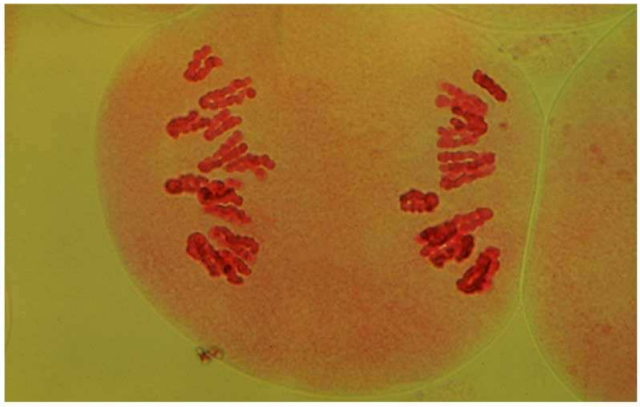
- Haute spiralisation des chromosomes (épais et courts); tétrades en forme d'anneaux ou croix; nombre de chiasmas diminue; disparition du nucléole et formation du fuseau achromatique.

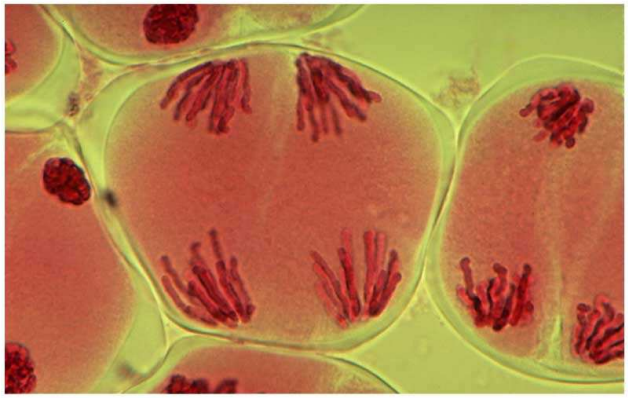


Division équationnelle









4. <u>Conséquences de la méiose</u> : ₵ mère (2n)→ 4 ₵ filles (n) semblables 2 à 2 s'il n'y a pas de C.O.

4. 1. <u>Réduction chromatique</u>

- Affecte les cellules des organismes diploïdes (staminales ou ovulaires, spermato-, ovocytes) → <u>Gamètes</u> avec 1/2 du matériel génétique (<u>haploïdes</u>).
- Les cellules haploïdes de certains végétaux → organismes haploïdes (thalles de fougères et de mousses) qui engendrent des gamètes.

4. 2. <u>La recombinaison génétique</u>: cause principale de la variabilité et diversité des êtres vivants 2 modes :

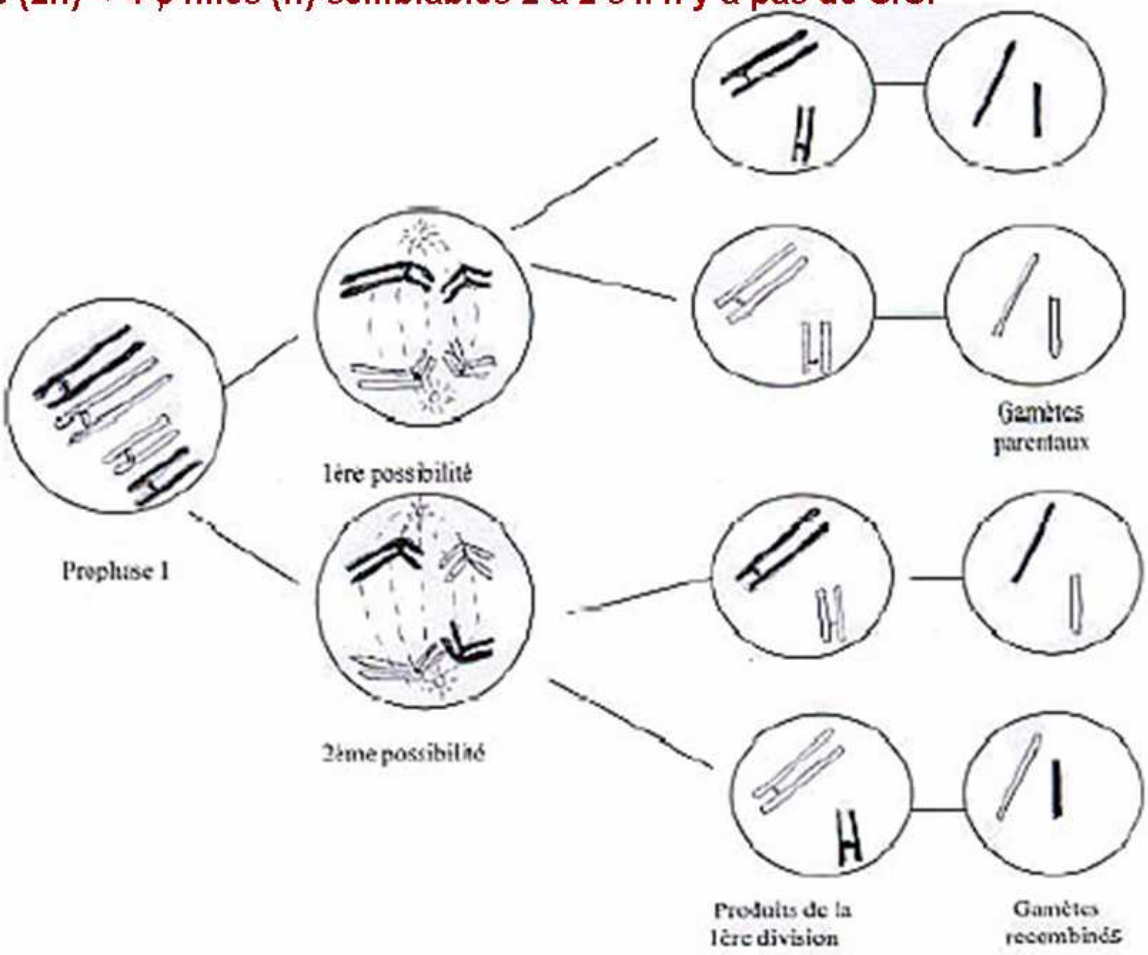
4. 2. 1. <u>Brassage intrachromosomique (crossing over)</u> (Fig. 32)

- Échange de segments entre chromatides homologues → information génétique recombinée (= enjambement = entrecroisement = chiasma).

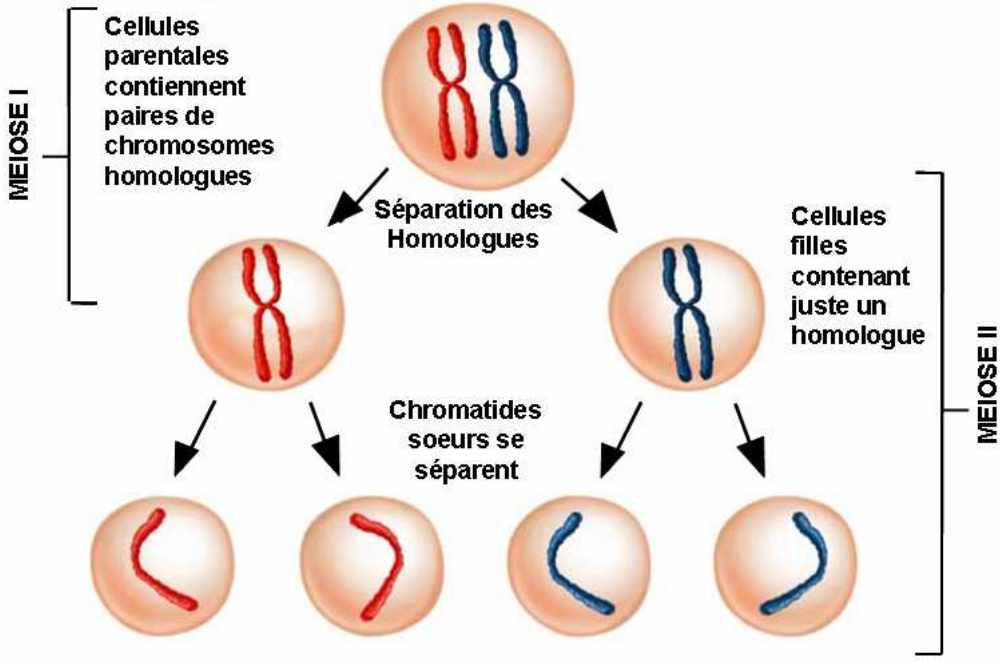
4. 2. 2. <u>Brassage interchromosomique</u>

- Séparation et redistribution aléatoire des chromosomes homologues : le nombre de possibilités de recombinaisons (mélange) augmente avec le nombre de chromosomes.

¢ mère (2n)→ 4 ¢ filles (n) semblables 2 à 2 s'il n'y a pas de C.O.

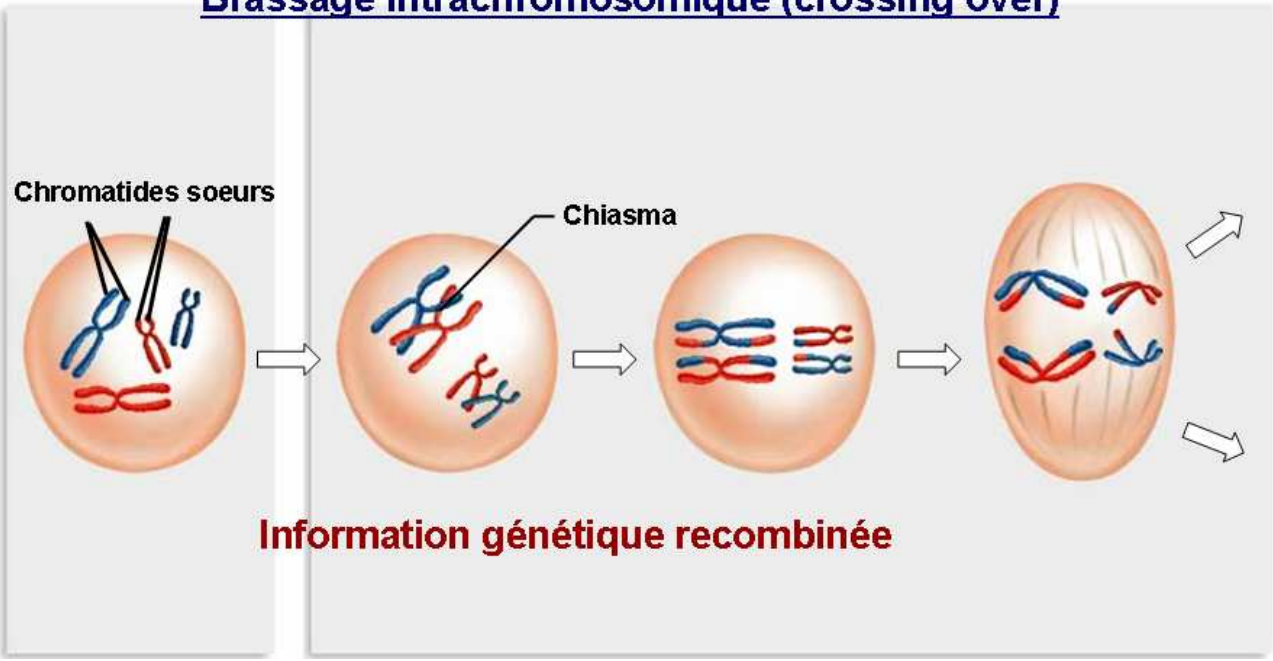


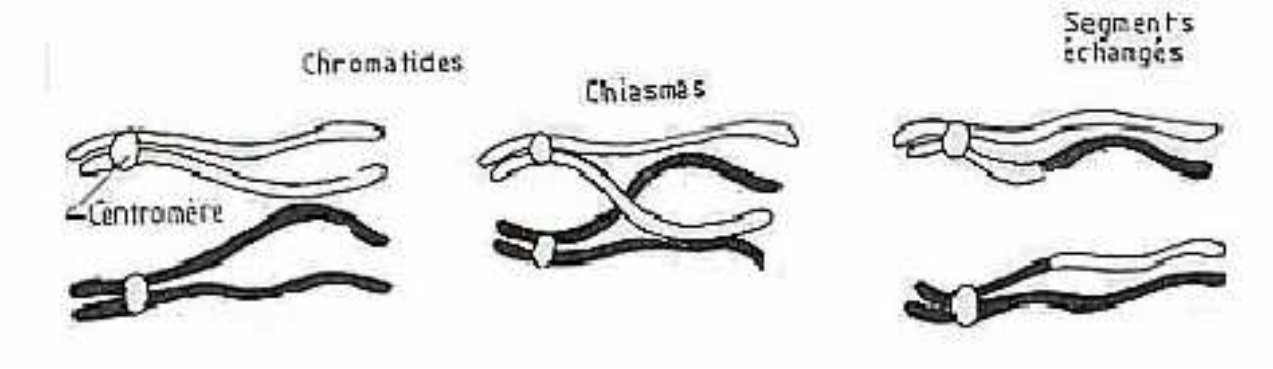
Durant la méiose, le nombre des chromosomes nombre est réduit dans la cellule.



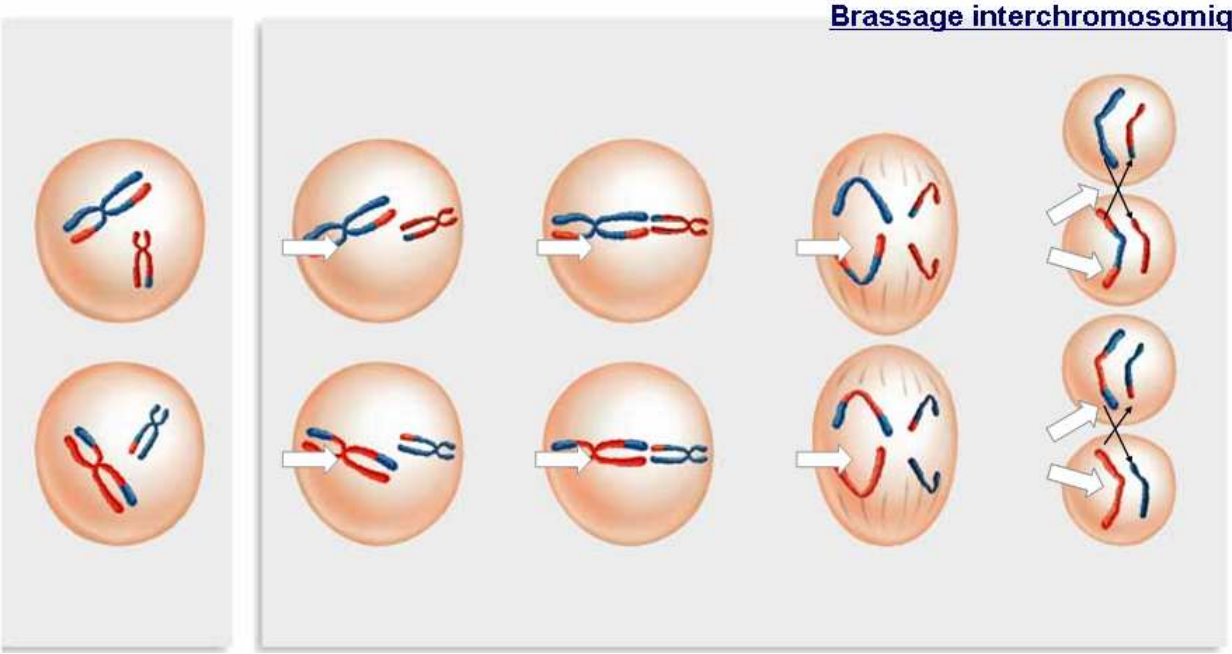
4 cellules filles contiennent chacune un chromosome.
Ces cellules deviennent gamètes.

Brassage intrachromosomique (crossing over)





Brassage interchromosomique



CHAP. 13. PROCARYOTES ET VIRUS

I. LES CELLULES PROCARYOTES

1. Généralités. Cellules les plus simples, plus petites (majorité des microorganismes) et plus anciennes: ≈ 3000 espèces (mycoplasmes, cyanophytes et bactéries).

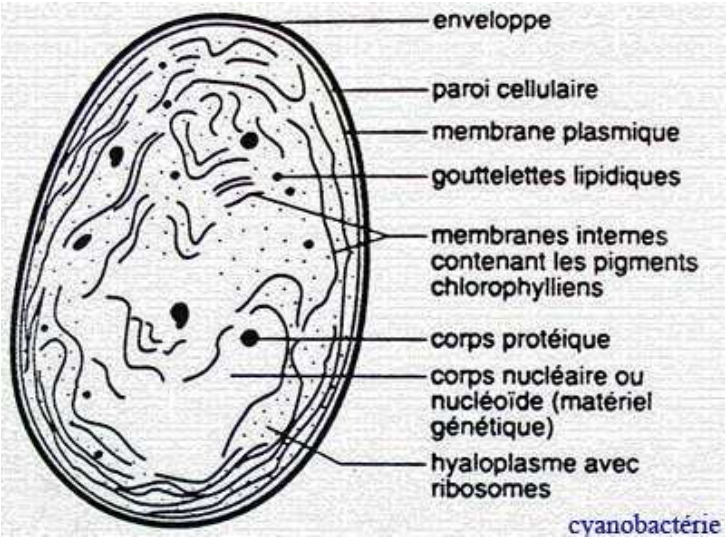
1. 1. Mycoplasmes = Parasites

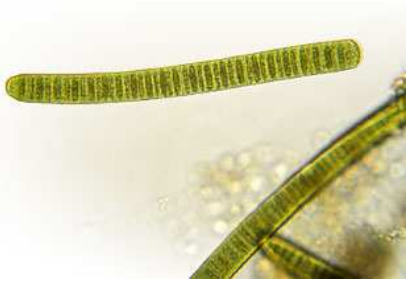
- Découverts par Pasteur (diagnostic de PPLO (PleuroPneumonia Like Organism) = organisme ressemblant à l'agent de la pleuropneumonie des bovidés), structure très simple: membrane protégeant un cytoplasme + nucléoïde (ADN) + enzymes, ribosomes, ARN.

Mycoplasme

1. 2. Cyanophytes (famille particulière de bactéries: cyanobactéries)

- Algues bleu-verts: organisation semblable aux bactéries + système photosynthétique (≈ des végétaux supérieurs) = chromatophore → autotrophes (≠ auxotrophe=organisme puisant l'énergie des nutriments puisés de l'environnement).





1. 3. <u>Bactéries</u> : Plusieurs familles classées selon divers critères:

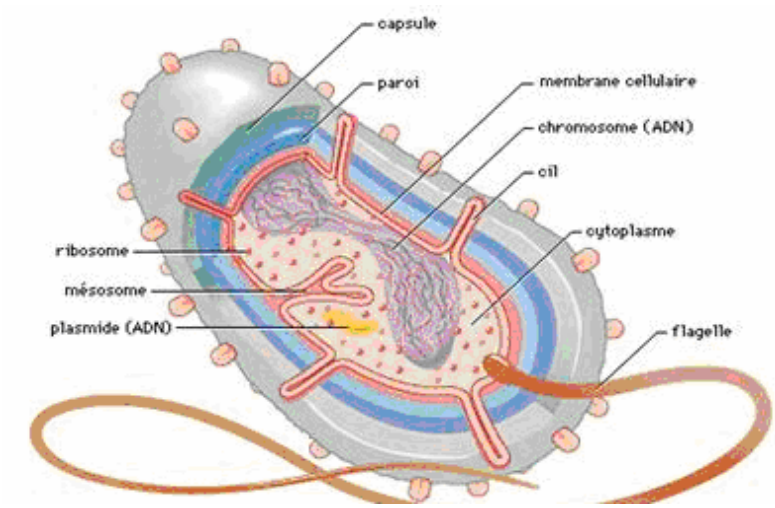
1. 3. 1. <u>Pathogénécité</u>: Certaines bactéries sont pathogènes → maladies: diphtérie, tétanos, tuberculose, pneumonie, MST (syphilis).

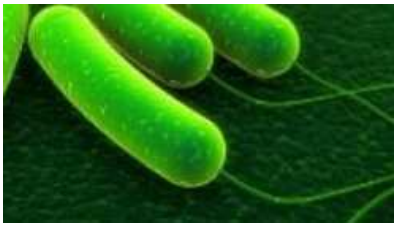
1. 3. 2. <u>Utilité</u> (à l'Homme)

- ***Industrie***: yaourt, charcuterie, amélioration de produits de conserves.
- ***Agriculture***: Fixation d'azotes → bonne culture des plantes (Luzerne).
- ***Biologie moléculaire***: transformation de bactéries → produits pharmaceutiques.

1. 3. 3. <u>Forme</u>: Les bactéries peuvent être classées:

- ***Bacilles***: les plus nombreuses (en bâtonnet); ex. type: *Escherichia coli* (non pathogène et séjourne dans le tractus intestinal de l'Homme)
- ***Cocci***: forme sphérique (parfois s'associent diplo-, staphylo- ou strepto-coques) → pneumonie, scarlatine, infection des blessures.
- ***spirilles***: forme hélicoïdale, souvent allongées (10à 500 µm); Ex. agent de la syphilis.





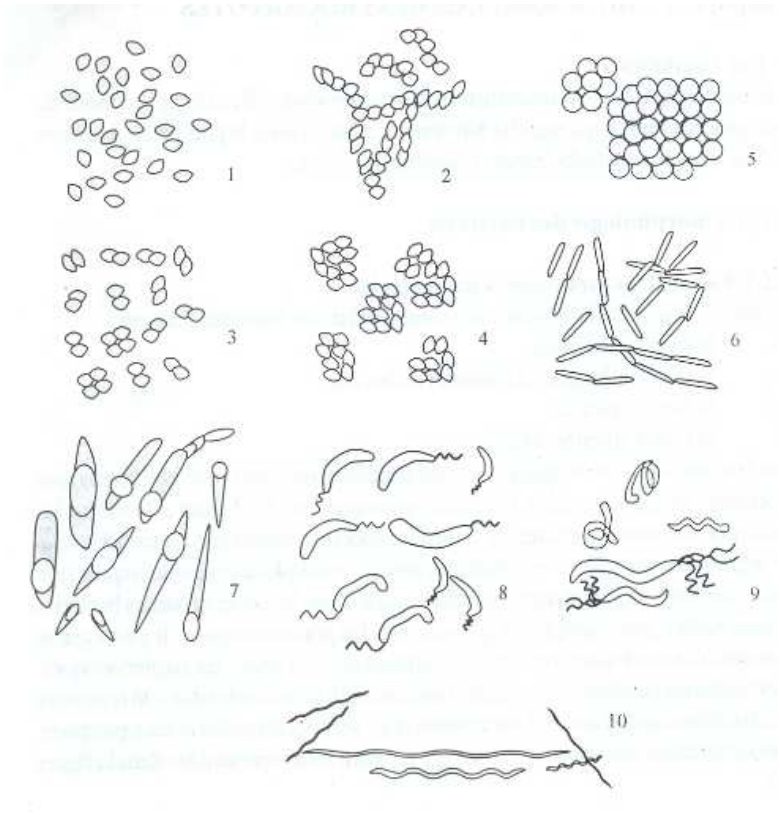
Bactérie

1. 3. 4. <u>Motilité</u>: (chez plusieurs bactéries)

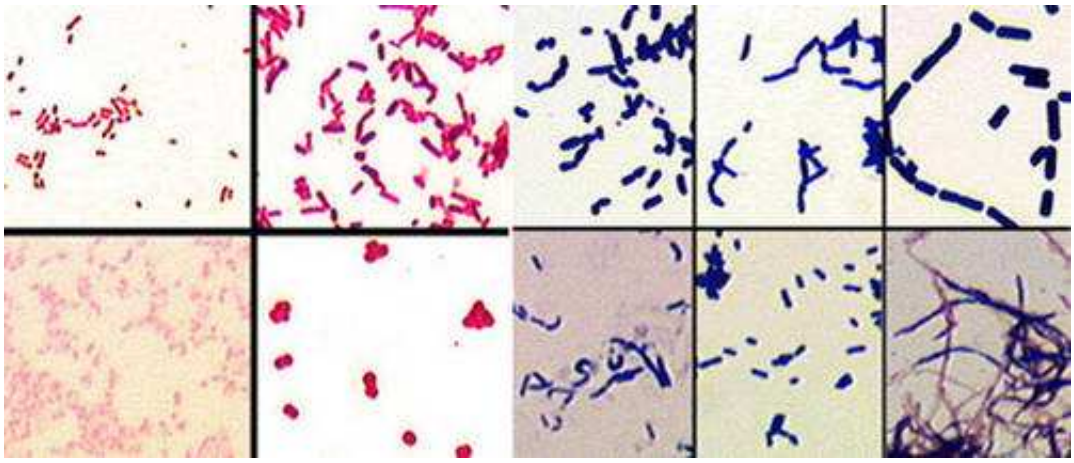
- Grâce à 1 ou plusieurs flagelles (rôle propulseur en milieu liquide): forme de baguette, minces, rigides et curvilignes (10 à 20 nm de long) et attachés à une structure située à l'intérieur de la membrane ressemblant à un rotateur.

-Paroi d'E. coli est recouverte d'une capsule (substance visqueuse) contenant des <u>pilis</u> → orienter la bactérie (<u>chimiotactisme</u>) + rôle antigénique.

1. 3. 5. <u>Réaction tinctoriale</u>: Coloration <u>Gram</u> → bactéries Gram + et Gram - (en relation avec structure/composition des parois).



1- Microccoques 6- bâtonnets ne formant pas de spores; 2- Streptocoques 7- bâtonnets formant de spores; 3- Diplocoques 8- les vibrions; 4- Staphylocoques 9- spiralés; 5- Sarcina 10- spiralés allongés



1. 3. 6. <u>Utilisation des métabolites et production des composés</u>

- O_2 (aerobique ou anaerobique); dégradation de sucres, protéines et lipides; production de gaz (fermentation,..)

- Procaryotes = partie très importante de la biomasse (3/4 de la matière vivante sur terre = microorganismes) → rôle important dans les échanges biologiques de matière et d'énergie.

2. <u>La bactérie</u>: exemple *<u>Escherichia coli</u>* = bactérie typique, la plus étudiée.

2. 1. <u>E. coli: structure et composition</u> ()

2. 1. 1. <u>La paroi</u> → protection de la bactérie de la lyse osmotique (membrane plasmique ne peut résister à la PO qui règne à l'intérieur de 20atm) = énorme macromolécule en forme de sac appelée <u>peptidoglycanne</u>.

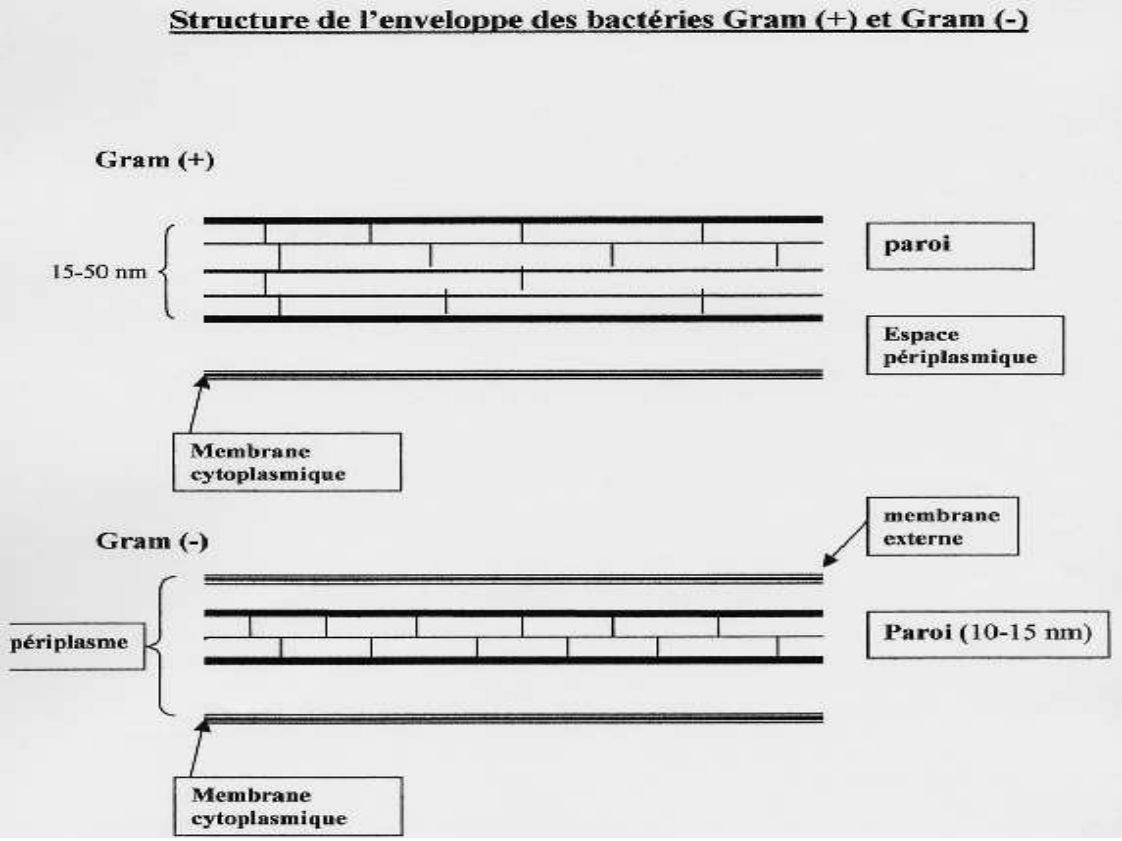
- Le peptidoglycanne est constitué de 3 parties (Fig. 41b)

* Disaccharide de N-acétylglycosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM) unis par liaison β-1,4.

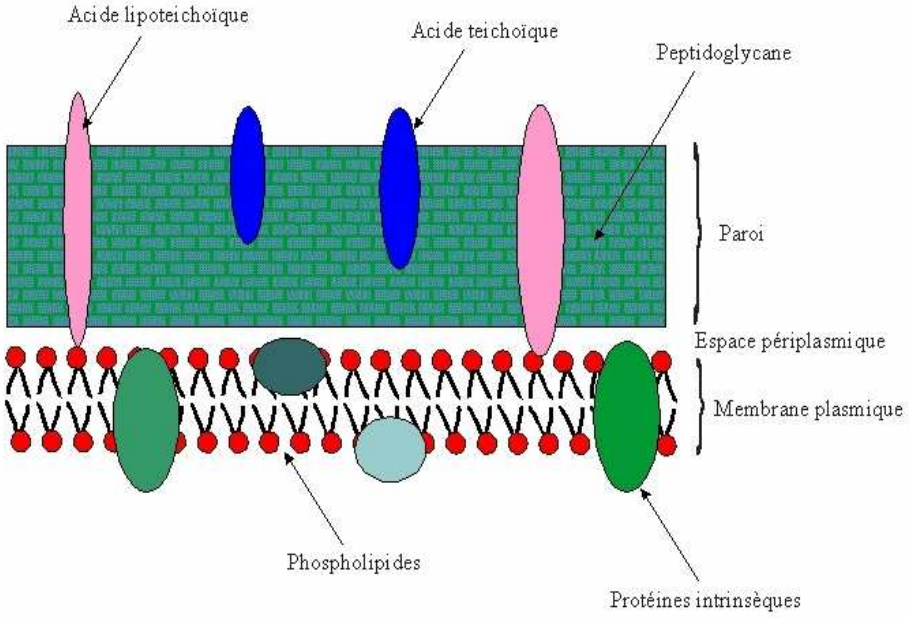
* Tetrapeptide: L-alanine, D-glutamine, L-lysine et D-alanine.

* Pentapeptide: 5 résidus glycines.

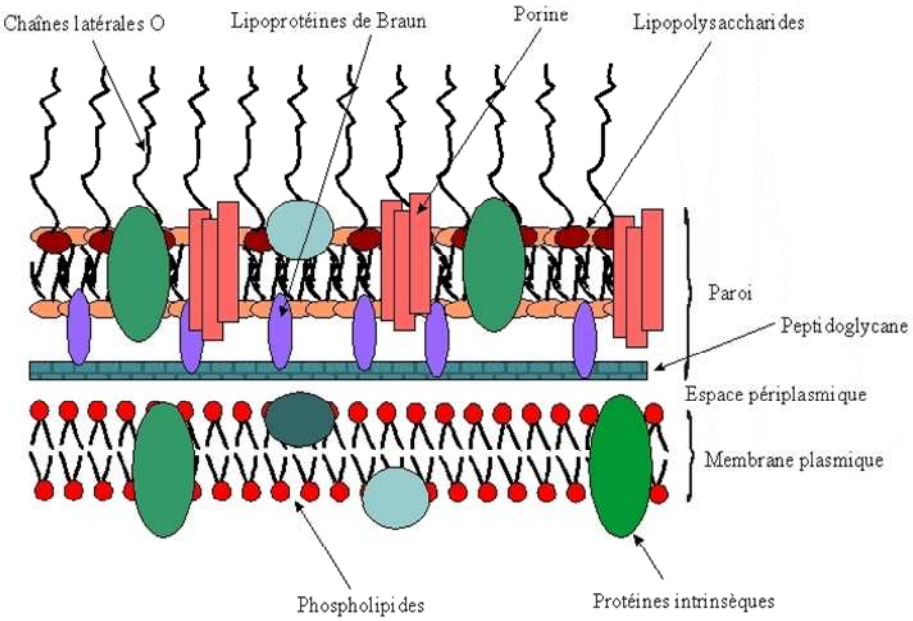
- Paroi importance en <u>médecine</u>: virulence (Expérience d'Avery-Mac Leod-Mc Carty), contient des antigènes (vaccination), inhibition de sa synthèse (par antibiotiques tel pénicilline) → mort bactérienne. - Différence entre bactéries Gram + et Gram -.



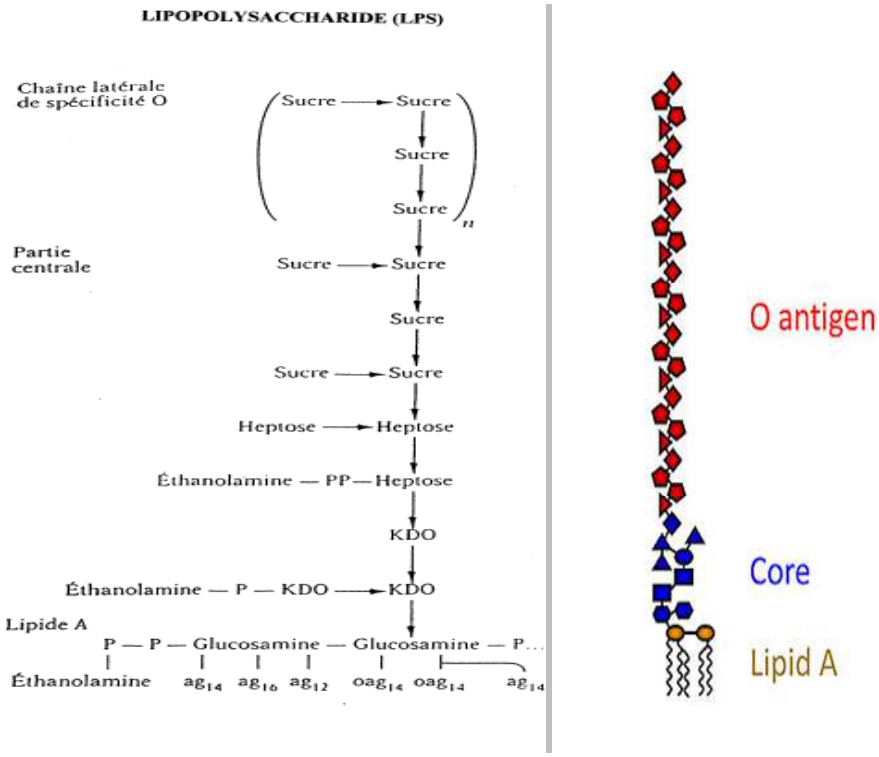
La paroi des bactéries Gram positif

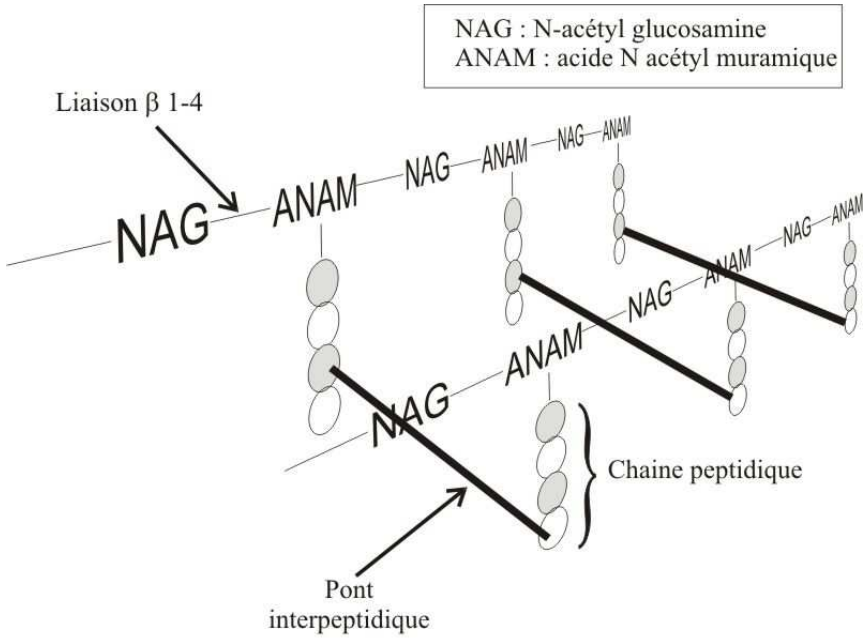


La paroi des bactéries Gram négatif



structure du lipopolysaccharide





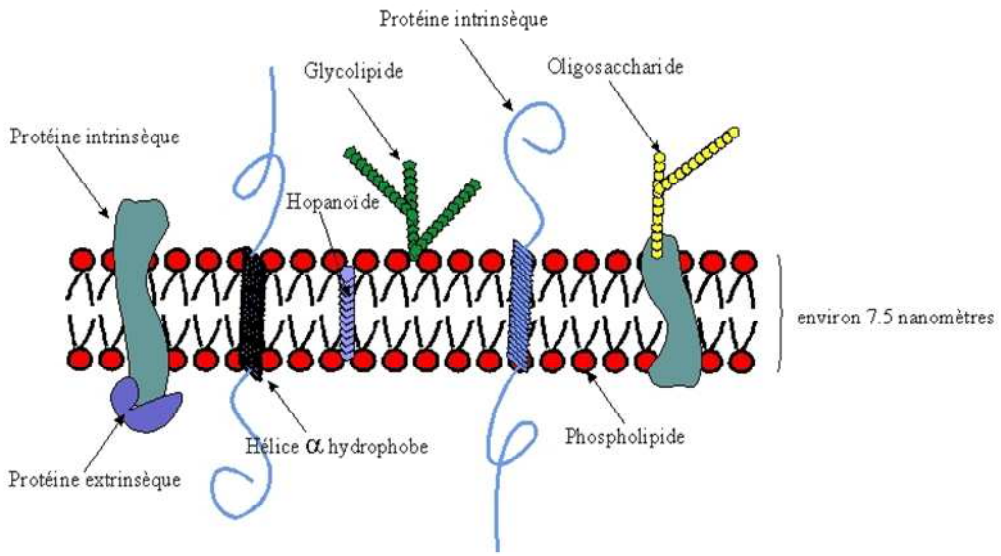
Le peptidoglycane.

R.Moreda Lycée Lacroix Narbonne

2. 1. 2. <u>La membrane plasmique</u>:→ mince double couche lipidique pénétrée par des protéines qui pour rôles:

- Perméabilité sélective (transport de nutriments, rejet déchets).
- Transport d'électrons génération d'énergie chimique (ATP, <u>mésosome</u>).
- Photosynthèse (chlorophylle et autres pigments des membranes internes).

Structure de la membrane cytoplasmique



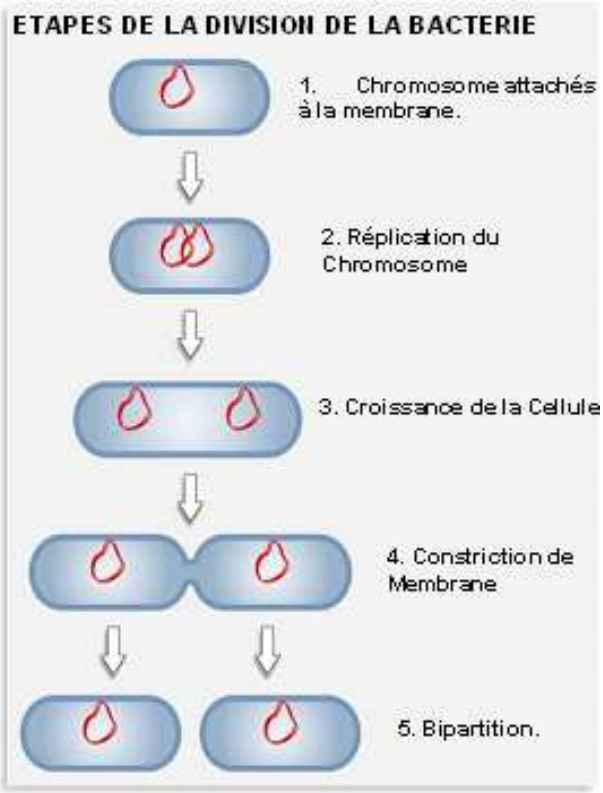
2. 1. 3. <u>Le cytoplasme</u> = cytosol + éléments granulaires ().

- <u>Le cytosol</u>: enzymes, précurseurs de macromolécules, sels inorganiques.
- <u>Les élements granulaires</u>: ribosomes (plus dense, 18 nm de ϕ → polysomes), et autres granules de réserves (amidon, lipides, phosphates, soufre).

2. 1. 4. <u>Le matériel génétique</u> = <u>nucléoïde</u>.

- Une molécule d'ADN bicaténaire en une très longue boucle (1000>bactérie).
- Segments d'ADN très petits et circulaire extrachromosomique (certaines bactéries) et semi-indépendants = <u>plasmides</u> → rôle dans la recombinaison.

2. 2. <u>Division de la cellule bactérienne</u>: Par <u>bipartition</u> (Amitose), précédée de la duplication du nucléoïde et du mésosome.



2. 2. 1. <u>Duplication du chromosome bactérien</u> ()

- = Réplication comparable avec les Eucaryotes (fragments d'OKASAKI, brin conducteur et retardé, ...).
- 3 types d'ADN polymérases interviennent dans la réplication (I, II, et III): l'ADN polymérase I est la plus <u>abondante</u> mais la III est la plus <u>importante</u> = enzyme responsable de l'élongation (complexe, poids moléculaire 550.000) = <u>holoenzyme</u> [polymérase α + les sous-unités β, δ, γ (2), τ, ε, et θ (2)].
- Ce complexe a besoins du Zn^{2+} et Mg^{2+}, une matrice et une amorce pour fonctionner, La sous-unité β (= <u>co-polymérase III</u>) est responsable de la reconnaissance et la fixation au brin amorce.
- En plus de l'activité polymérasique, les ADN polymérases I et III ont 2 autres activités: <u>exonucléases</u> 5' →3' et 3' → 5' = hydrolyse des nucléotides terminaux de l'un ou l'autre brin d'ADN en cas de corrections d'erreurs.

2. 2. 2. <u>Expression de l'information génétique</u> ()

- L'ADN d'E. coli ≈ 4 millions de pb groupés dans ≈ 3000 gènes.

* **<u>Transcription chez les bactéries</u>**: Par une enzyme, <u>ARN polymérase ADN dépendante</u> (qui a des similitudes avec les ADN polymérases) qui synthétise non seulement l'ARNm mais aussi l'ARNt et l'ARNr (NTP, Zn^{2+}, Mg^{2+}).

- Enzyme = complexe (PM 500.000) avec 5 sous-unités polypeptidiques {chaînes α (2), β, β' et σ}, la chaîne σ aide l'ARN polymérase à reconnaître correctement le site promoteur puis se détache de l'holoenzyme, puis la fin du (ou des) gène (s) à transcrire est signalée par une séquence de terminaison dans la matrice par une protéine (ρ) qui libère l'enzyme (Fig. 43).
- Les ARNm formés des bactéries sont toujours plus longs que les chaînes polypeptidiques correspondantes (séquence leader en 5' non codante, 25 à 150 bases) et peuvent coder pour un polypeptide (= monogénique/monocistronique) ou pour 2 ou plusieurs polypeptides (= polygénique/polycistronique).
- Les ARNm polygéniques peuvent contenir des régions non-traduites intergéniques qui séparent les régions codantes → aider à la régulation de la vitesse de traduction (≠ l'épissage chez les Eucaryotes).

*** Traduction chez les bactéries** ():Se fait comme chez les Eucaryotes mais avec des différences à signaler: particules ribosomiales 30S et 50S au lieu de 40S et 60S; Facteur d'élongation EF.T au lieu de EF1 et EF2, initiation de la chaîne avec la formylMéthionione, ...
- La synthèse des protéines (structurales ou fonctionnelles) chez les procaryotes peut être inhibée par des antibiotiques → mort (protéine importante) ou réduction de la culture bactérienne (protéine peu importante): ° Pénicilline: bloque la synthèse de la paroi bactérienne.

° Tétracycline: bloque le site A du ribosome.

° Streptomycine: provoque une mauvaise lecture du code génétique.

° Chloramphénicol: inhibe la synthèse des ribosomes.

2. 3. Croissance de la population bactérienne

2. 3. 1. Généralités: Si l'on cultive une bactérie, on peut obtenir une population bactérienne après un certain temps de culture.
- Temps de génération = temps au bout duquel le nombre de la population bactérienne se dédouble, il est caractéristique de l'espèce (≈ 20min pour E. coli). La croissance d'une population bactérienne se fait d'une manière exponentielle :

$$N_t = N_o \times 2^{(t/T)} = N_o \times 2^{(n)}$$

où N_o = nombre initial des bactéries; N_t = nombre des bactéries au temps (t);

T = temps d'une génération; n = (t/T) = nombre de générations.

2. 3. 2. Besoins pour la croissance bactérienne

- Un milieu idéal pour une vie normale d'une cellule bactérienne doit contenir: source de carbone et d'énergie (glucose ou autre sucre); source d'azote (NH_3 ou composés aminés); source de sels (P, S, NaCl, K et Mg, qui tamponnent le milieu à un pH physiologique (7)) et de l'eau où a lieu les réactions enzymatiques = milieu minimum.
- La bactérie qui croit sur ce milieu est dite prototrophe: possède l'essentiel d'enzymes pour

synthétiser ce dont elle a besoins (nucléotides, aa, lipides, ..) ≠ auxotrophe: bactérie qui manque un ou plusieurs enzymes pour la synthèse de ces composés = facteurs de croissance.

- D'autres facteurs (physiques) peuvent influencer la culture bactérienne (pour un optimum de croissance): température, pression et oxygène.
- Suivant les exigences en oxygènes, on distingues des bactéries:
    - ° Aérobes strictes: culture qu'en présence d'oxygène.
    - ° Aérobes facultatives: culture en présence ou en absence d'oxygène.
    - ° Anaérobes: culture qu'en absence d'oxygène.
- Certains composés chimiques sont capables de modérer la croissance bactérienne (= cofacteurs ou facteurs stimulants) comme les vitamines.

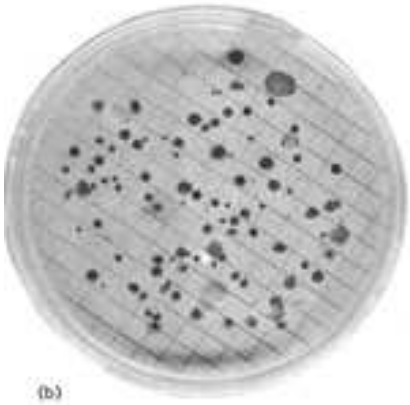
2. 3. 3. Les différents phases de la croissance bactérienne

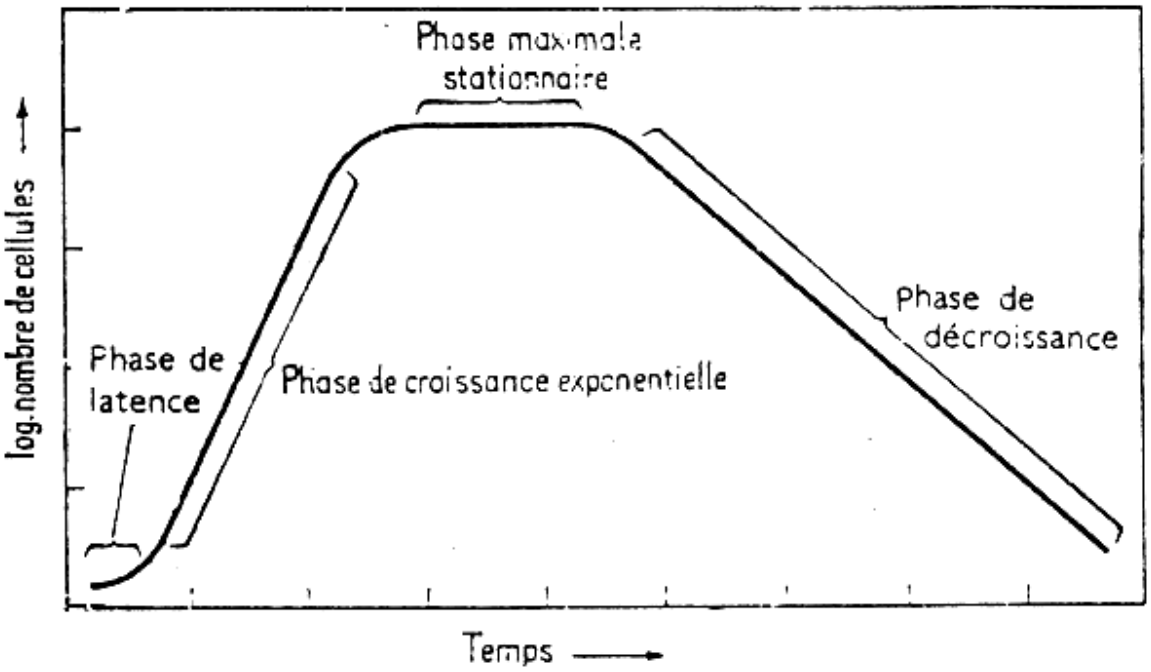
- Dans un milieu liquide, une bactérie peut engendrer une population bactérienne en passant par 3 phases:

* Phase de latence: croissance minimale voir absente = reconnaissance du milieu par la bactérie et de préparation pour la division. sa durée est fonction du type de milieu, de la souche bactérienne (quelques heures, parfois moins d'1 h).

* Phase exponentielle: bactéries en pleine activité métabolique et leur nombre augmente d'une manière exponentielle (dédoublement à chaque génération): si on prélève une bactérie à cette pour la cultiver sur un autre milieu idéal → courbe de croissance serait sans phase de latence.

* La phase stationnaire et de déclin: En phase stationnaire, le temps de génération plus long à cause de l'épuisement des ingrédients du milieu de culture ou bien l'accumulation de métabolites toxiques. Si ces conditions sont maintenues davantage, la nombre de bactéries diminuerait (→ phase de déclin) par lyse bactérienne dans ces conditions défavorables à la culture.





Courbe de croissance généralisée d'une culture bactérienne

2. 4. <u>Recombinaison bactérienne</u>

- Les procaryotes ont des systèmes enzymatiques capables de <u>corriger</u> des erreurs de la réplication ou les lésions d'ADN provoquées par d'autres facteurs (hydrolyse, agents mutagènes, UV, radiations ionisantes, agents désaminants et alkylants). Si ces erreurs ou lésions sont non corrigées → <u>mutations héréditaires</u> qui peuvent être <u>létales</u> (→ mort), <u>silencieuses</u> ou même <u>favorables</u>.
- Ces mutations peuvent avoir lieu chez les bactéries au cours des événements de la <u>recombinaison génétique</u> = échange ou addition biologique normale de gènes provenant de différents sources chromosome altéré qui peut être répliqué, transcrit et traduit. parmi ces événements on distingue:

2. 4. 1. <u>Transformation bactérienne</u>: introduction d'un ADN exogène (d'une bactérie <u>donneuse</u>) dans une cellule (<u>receveuse</u> qui est dite <u>transformée</u>), amenant à celle-ci un nouveau phénotype (expérience d'Avery-Mac Leod-Mc Carty). La transformation se fait au hasard et peut se reproduire au laboratoire par l'utilisation du $CaCl_2$.

2. 4. 2. <u>Lysogénie</u> (): Liaison covalente entre l'ADN d'un phage qui infecte une bactérie et l'ADN de la bactérie hôte → réplication de l'ADN phagique avec celui de la bactérie sans former les particules virales (<u>cycle lysogénique</u>). À un certain moment les gènes viraux dormants donnent une progéniture virale (lyse de l'hôte → <u>cycle lytique</u>). Ce type de recombinaison se produit chez l'Homme avec le virus de l'herpès → lésions et ulcérations.

2. 4. 3. <u>Transduction</u>: transfert de fragments d'ADN chromosomiques entre bactéries par un phage qui passe d'une bactérie hôte vers une autre → exploitée pour déterminer la carte des chromosomes bactériens.

2. 4. 4. <u>Conjugaison bactérienne</u> : conjugaison <u>sexuelle</u> où une partie ou la totalité d'un brin d'un chromosome d'une cellule <u>donneuse</u> {= F^+ ou (+), car transporte un facteur <u>sexuel F</u> (= plasmide)} est transféré dans une cellule réceptrice {ne possède pas de facteur F, (-)} de la même espèce. Ce transfert se fait par une connexion = <u>poil</u> → acquisition dans par la cellule receveuse de nouveaux caractères.

Etat de bactéries lors de la conjugaison

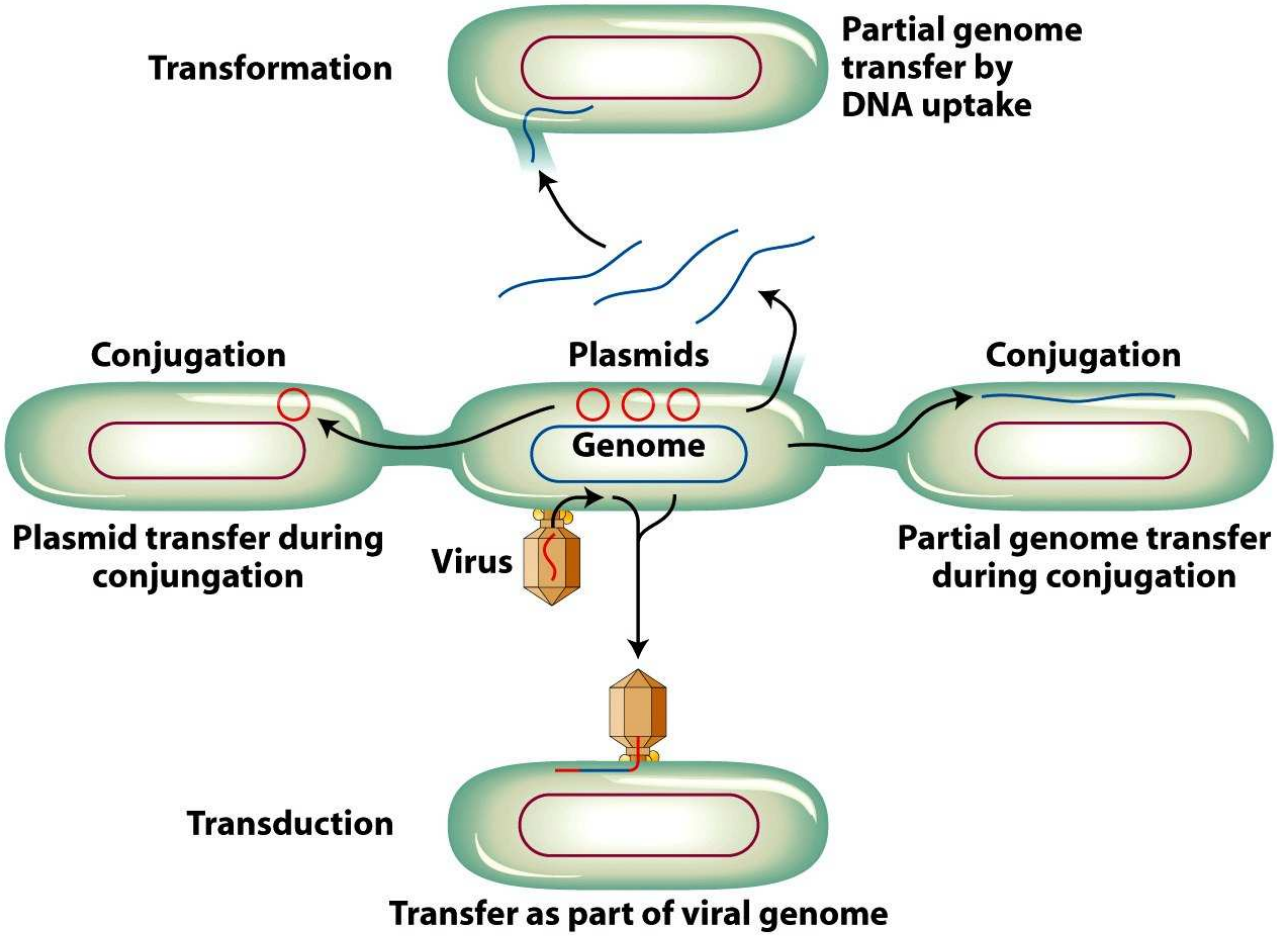
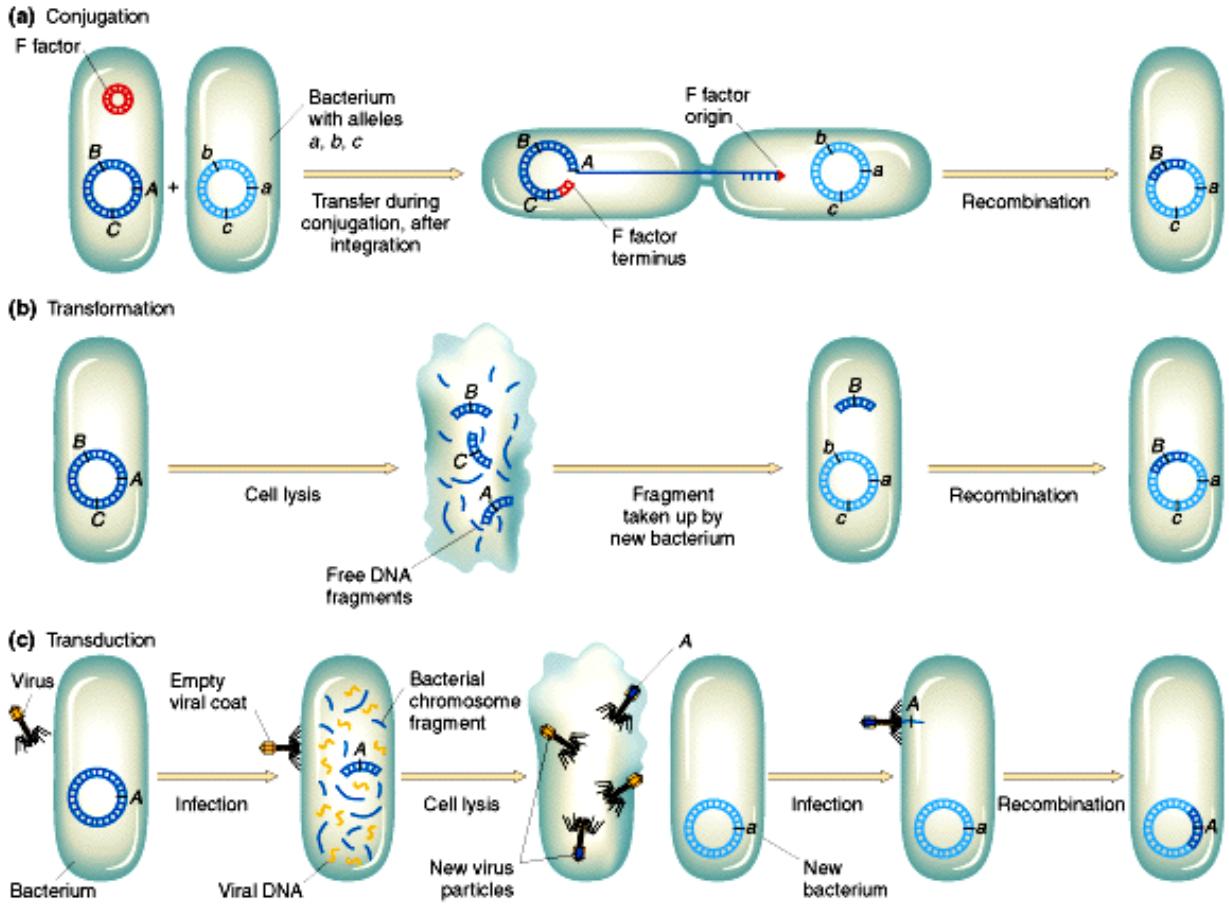


Figure 5-2
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



II. <u>LES VIRUS</u> (Voir chapitre 4)

1. <u>Généralités</u>

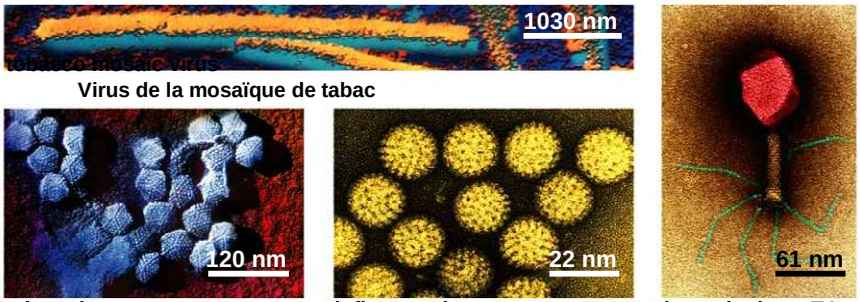
- Virus est un complexe infectant (acide nucléique + protéine) qui s'autoréplique et nécessite une cellule hôte pour sa réplication.

- Virus = structures <u>supramoléculaires non vivantes</u>, formés d'une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN, mono- ou bicaténaire) entourée d'un revêtement protéique = <u>parasites supramoléculaires</u>, qui existent sous 2 états:

* <u>Virions</u>: forme inactive du virus avant d'infecter une cellule hôte, ayant une forme, une taille et une composition régulière qu'on peut même cristalliser.

* <u>Particule virale</u>: forme très active du virus au sein de la cellule hôte.

Virus: large variété de forme et structure



Virus de la mosaïque de tabac

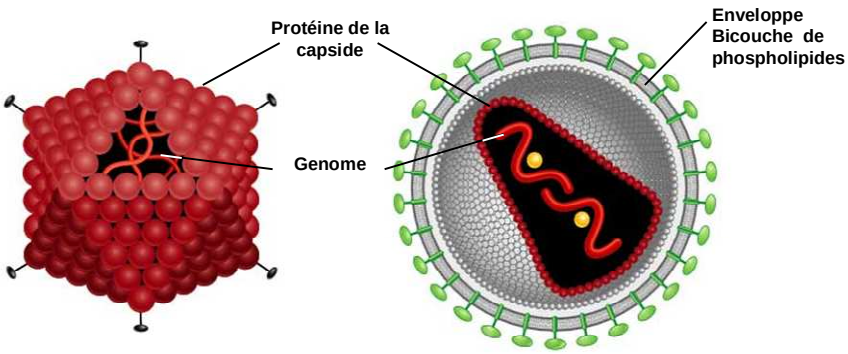
adenovirus influenza virus bacteriophage T4

2. <u>Structures et composition des virus</u> ()

- Des centaines de virus sont connus, chacun étant spécifique d'un type particulier de cellules hôtes {Procaryote ou Eucaryote (végétale ou animale)}.
- Le virus peut contenir dans sa capside un seul type de protéines (virus de la mosaïque de tabac) ou bien une dizaine ou même une centaine de protéines différentes, sa taille est très variable {18 nm(phage ϕx174) → taille aussi grande que les plus petites bactéries (vaccine)} → complexité de structure et de forme.
- Parmi les plus complexes, le bactériophage T4: tête et queue avec un ensemble complexe de fibres protéiques = *seringue hypodermique* lors de l'injection d'ADN viral dans la cellule hôte.
- Certains virus sont très pathogènes pour l'Homme (variole, poliomyélite, grippe, mononucléose infectieuse), d'autres sont <u>cancérigènes</u> (virus oncogènes).

Structures des Virus

Une grande distinction à propos des virus: possèdent une enveloppe ou non



Virus non enveloppé Virus enveloppé

3. <u>Infections phage-bactérie</u>: 3 situations sont envisageables:

* Bactérie résistante → phage inactif et hôte immunisé contre lui.
* bactérie lysogène et phage tempéré coexistent → phage dans un état latent mais peut devenir virulent dans divers circonstances (= choc inducteur).
* Phage virulent attaquant une bactérie sensible → apparition de plages de lyse dans la colonie (lyse des hammabactéries et production des particules virales).

4. Infection de la bactérie par le phage = Cycle lytique (ex. phage T/E. coli)

4. 1. La phase d'adsorption: Fixation du phage par l'extrémité de sa queue au niveau de récepteurs spécifiques (lipoprotéines ou lipopolysaccharides de la membrane bactérienne).

- Des lysosomes phagiques détachent aa, NAM, NAG du peptidoglycanne) → altération de la membrane et du cytoplasme bactérien: adsorption irréversible du phage, contraction de la partie hélicoïdale (queue) et pénétration de la partie interne cylindrique dans la membrane désorganisée localement.

4. 2. La phase d'infection d'ADN: Injection de l'ADN du phage vers le cytoplasme de l'hôte à travers un tube étroit constitué par la queue: la dépouille du phage reste à l'extérieur. Cette phase dure 1 minute.

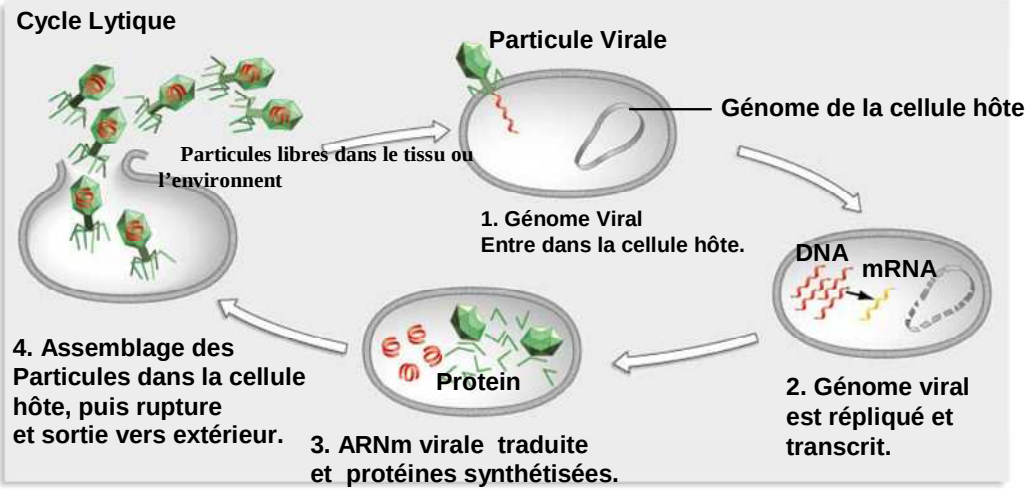
4. 3. L'élaboration des phages: ce processus commence par une phase végétative = phase d'éclipse ou de latence, où le phage semble disparaître → métabolisme bactérien modifié, en particulier l'arrêt de la synthèse de son ARN.

- 2 à 3 min après attaque par le phage, une désoxyribonucléase (synthétisée sous l'influence de phage) va dégrader l'ADN bactérien et dont les produits (nucléotides, bases) = précurseurs de l'ADN des phages fils.
- La synthèse d'ADN des phages fils se fait au cours de cette phase d'éclipse (6ème et 7ème min) par une ADN polymérase formée entre 4ème et 5èmemin.
- Vers la fin de la phase d'éclipse (10ème min), la bactérie est remplie d'ADN de futurs phages.
- La synthèse des protéines virales se fait par les ribosomes bactériens en traduisant les ARNm viraux et en puisant les acides aminés que la bactérie continue à prélever du milieu extérieur. Ces polypeptides vont s'associer pour former les différentes parties du phage: apparition à la 9ème min de têtes de phages incomplètes en voie d'élaboration et juste après la phase d'éclipse (10ème min) des queues.
- Vers 12ème min apparaissent des virions complets par assemblage de ces diverses parties du phage grâce.

4. 4. La lyse bactérienne: Formation vers le milieu de la phase d'éclipse (au moment où l'on décèle les premiers constituants protéiques de la queue des phages) de molécules de lysosomes. Lorsque ces enzymes seront abondants, ils provoquent la lyse de la membrane bactérienne de l'intérieur → libération des nouveaux phages, prêts pour un nouveau cycle infectieux.

Cycle de Multiplication du Virus

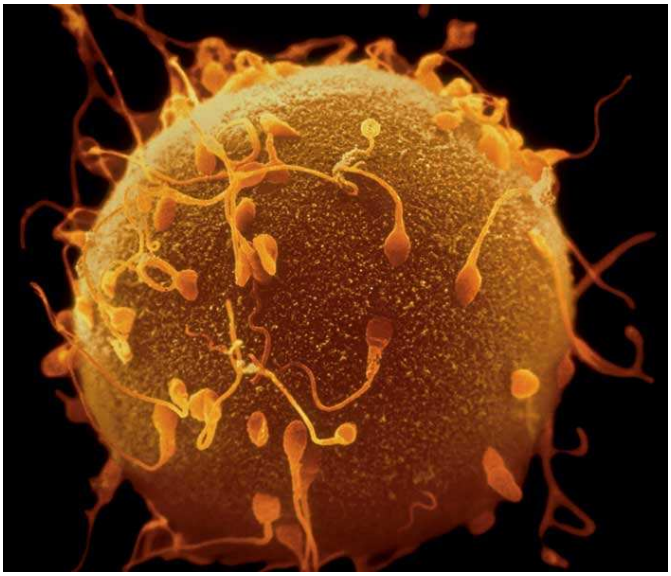
Exemple: Bactériophage

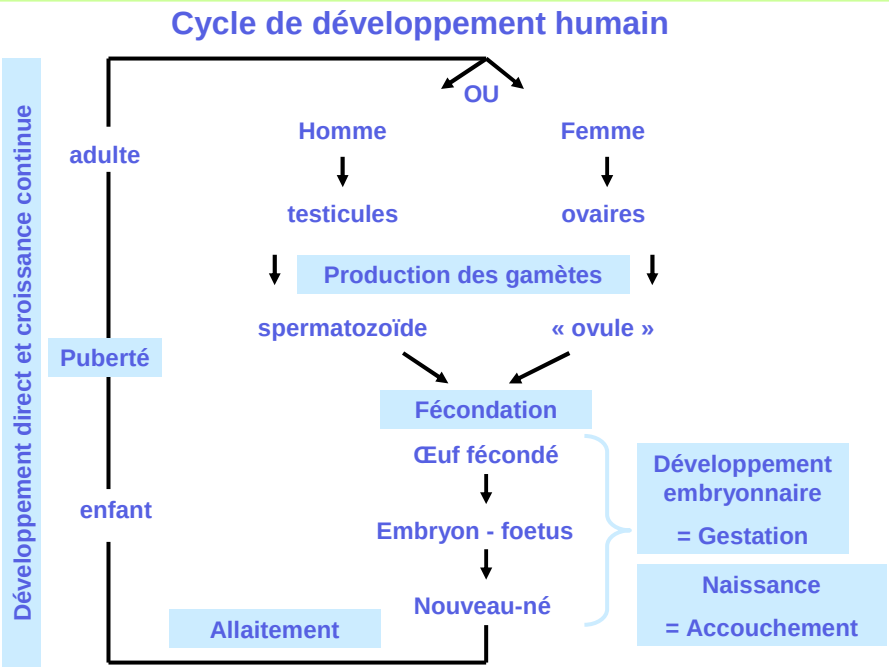


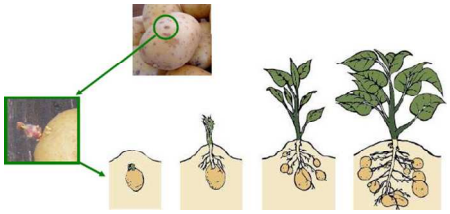
CHAP. 13 SEXUALITÉ: gamétogenèse, fécondation et embryogenèse

INTRODUCTION

- Le phénomène de reproduction constitue l'un des critères fondamentaux du monde vivant pour assurer la pérennité de l'espèce.
- Mode de reproduction le plus simple des êtres primitifs (ASEXUÉE) dans laquelle un fragment se détache pour donner un nouveau-né (bouturage chez les plantes, bourgeonnement chez certains animaux inférieurs).
- Chez les animaux les plus évolués, le seul mode de génération est la reproduction SEXUÉE où 2 individus mâle et femelle vont donner des cellules germinales ou gamètes dont l'union donnera un oeuf ou zygote.







(bourgeonnement et bouturage chez les plantes,

bourgeonnement chez certains animaux inférieurs (Ascidies)).

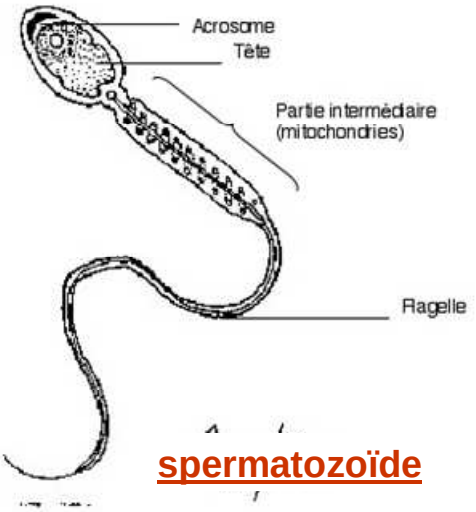
I. LA GAMÉTOGENÈSE

1. Définitions

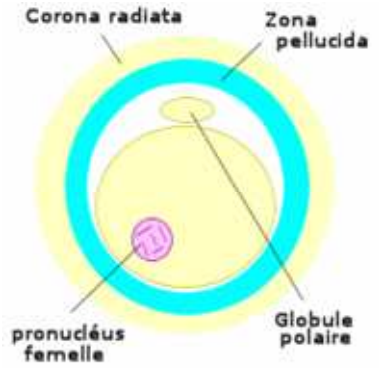
- Les gamètes sont des cellules sexuelles formées par le processus biologique = gamétogenèse et dont l'unique fonction est la reproduction.
- Gamète mâle = spermatozoïde et gamète femelle = Ovule : les 2 présentent des différences suivant le sexe et l'espèce → Le spermatozoïde généralement de taille réduite et possède un flagelle et un appareil acrosomique (déplacement et pénétration dans l'ovule). L'ovule de grande taille (réserves pour le développement de l'embryon), dépourvu d'appareil locomoteur.

2. Origine des gamètes et notion de lignée germinale

- Tout être vivant renferme 2 types de cellules (→ 2 lignées):
  * Cellules somatiques (Soma) = fonctions végétatives (C différenciées).
  * Cellules germinales (Germen) = assurent la reproduction de l'individu.
- Les cellules sexuelles forment une chaîne ininterrompue à travers les générations (notion de continuité du germen).
- Weisman (1885) → plasma germinatif dans l'oeuf féconde = souche des gamètes.

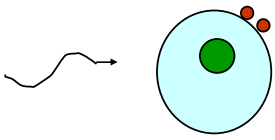


spermatozoïde



Ovule

Dimensions des gamètes



3. Les phases de la gamètogenèse

- Le germen installé dans la gonade, va subir la gamètogenèse qui se passe en 3 phases : multiplication, accroissement et Maturation (Fig. 33).
- La gamètogenèse se fait différemment selon le sexe mais la spermatogenèse et l'ovogenèse gardent certains caractères en commun.

3. 1. Phase de multiplication

- Multiplication (par mitose) des cellules germinales (2n) quand la gonade se différencie selon le sexe = spermatogonies (mâle) et ovogonies (femelle) :

* Chez la mâle: la phase de multiplication est lente chez le jeune et devient plus intense au moment de l'activité génitale chez l'adulte.

* Chez la femelle: cette phase est généralement limitée à la période foetale (s'arrête à la 15ème semaine du développement embryonnaire humain).

3. 2. Phase de croissance

- Les cellules germinales cessent temporairement de se multiplier et augmentent de volume = spermatocytes I et ovocytes I : augmentation très faible pour les spermatocytes I mais considérable pour les ovocytes I.
- Cellules toujours diploïdes et début de la préméiose = prophase de la première division de

maturation (Chez la femelle, l'ovocyte I reste bloqué en préméiose jusqu'à la ponte ovulaire ou la fécondation).

3. 3. Phase de maturation

- Où a lieu 2 divisions de maturation (= méiose) → réduire de moitié le nombre de chromosomes et obtention de 4 éléments différents dans leur génome.

* La 1ère division de maturation (réductionnelle) fait naître 2 cellules haploïdes = 2 spermatocytes II ou un ovocyte II et un globule polaire.

* La 2ème division de maturation (équationnelle) donne des éléments haploïdes : 2 spermatides (se transforment en spermatozoïdes par spermiogenèse) par spermatocyte II et un ovotide et un globule polaire par ovocyte II (stade ovotide = noyau près à fusionner avec le pronucléus mâle).

4. Le gamète mâle ou spermatozoïde

4. 1. Spermiogenèse (Fig. 34)

- S'accomplit dans les tubes séminifères où les spermatides sont réunis en petits groupes contre l'extrémité apicale des cellules de Sertoli (dans les testicules). Le spermatocyte II est une cellule arrondie ou polygonale (10 µm de Φ) dont le cytoplasme contient principalement : l'appareil de Golgi (idiosome), 2 centrioles approchés, des mitochondries et des granules proacrosomiques dont la fusion donne naissance à l'acrosome coiffant le noyau dans le spermatide.
- Le spermatozoïde définitif comprend 4 parties d'importance inégale :

* La tête : Élargie avec à l'avant la coiffe acrosomique (noyau allongé).

* Le cou : zone de constriction cytoplasmique (mitochondries et centriole proximal).

* La pièce intermédiaire : les mitochondries se mettent en spire autour du filament flagellaire, unissant le centriole distal à l'anneau de Jansen.

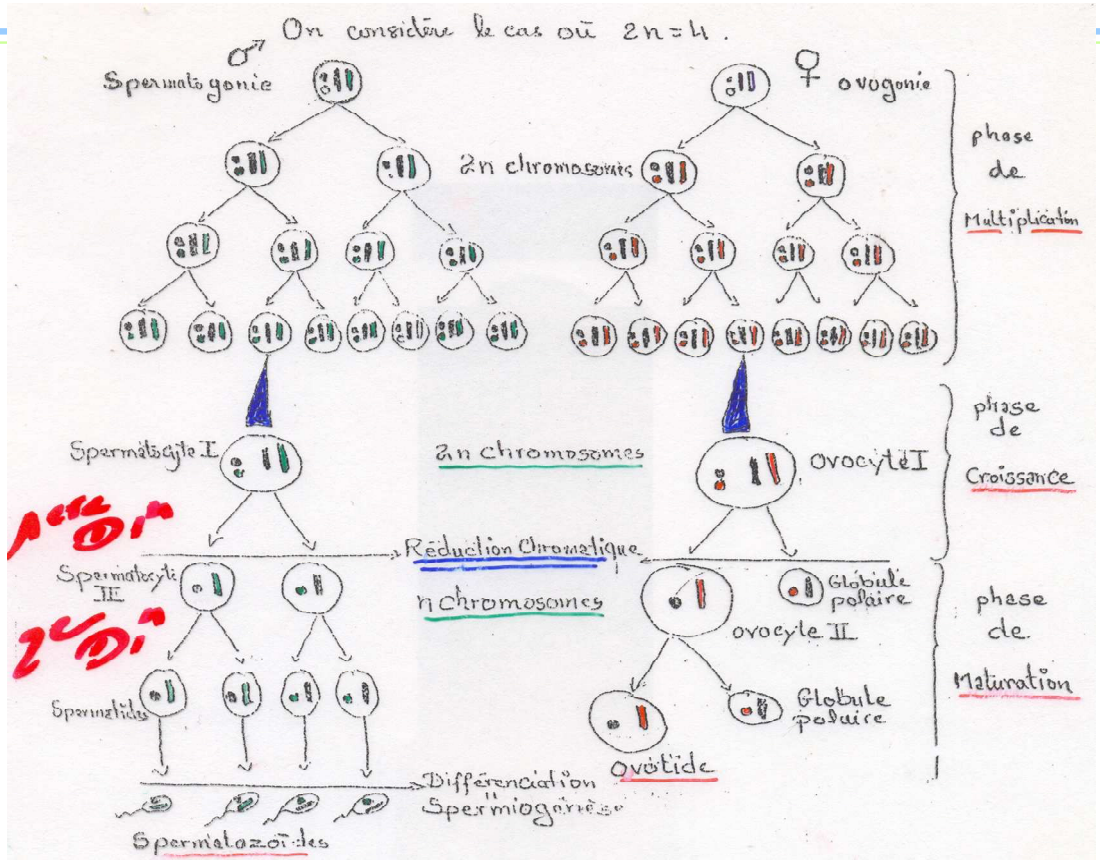
* La queue : constituée surtout par le flagelle (2 pièces: principale antérieure entourée d'une mince enveloppe cytoplasmique et, terminale postérieure dépourvue de cytoplasme) = région ondulante → déplacement.

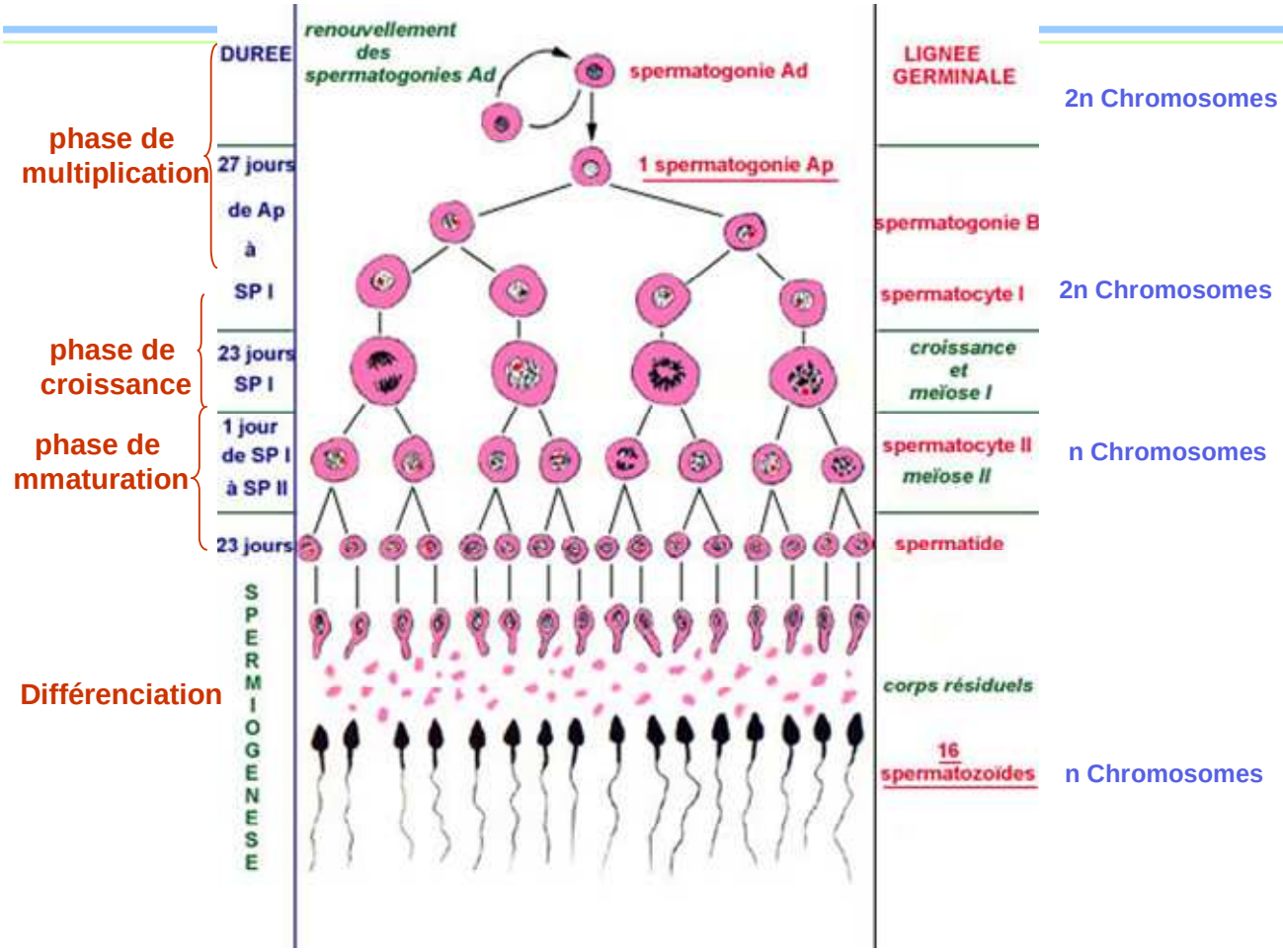
4. 2. Composition chimique de spermatozoïde

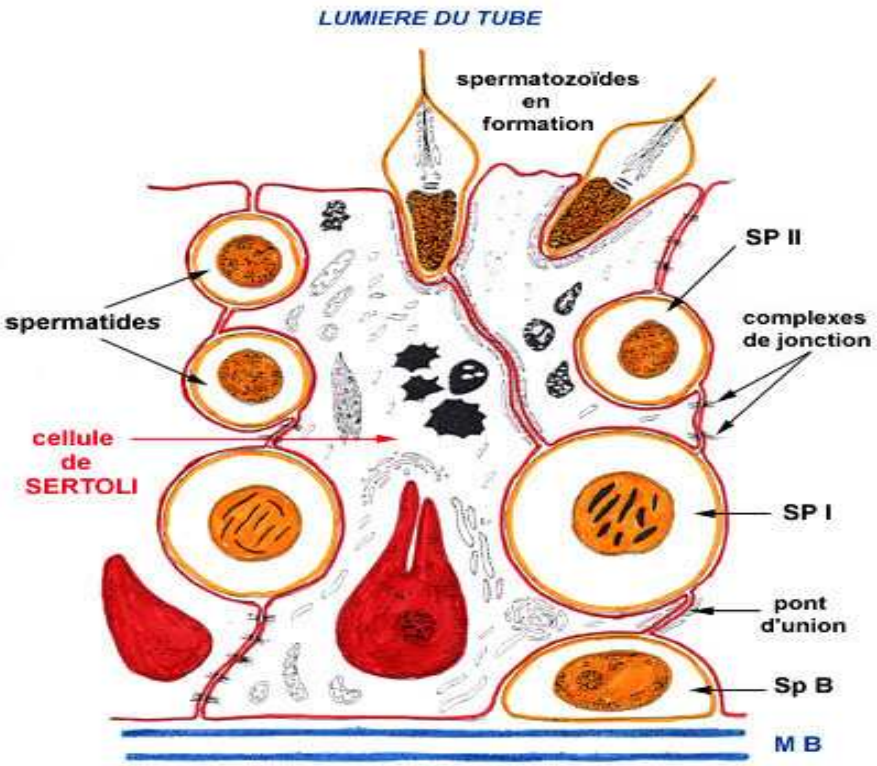
- ADN : 40% du poids sec du noyau et 20% du poids sec d'un spermatozoïde (moitié de la quantité d'ADN d'une cellule somatique).

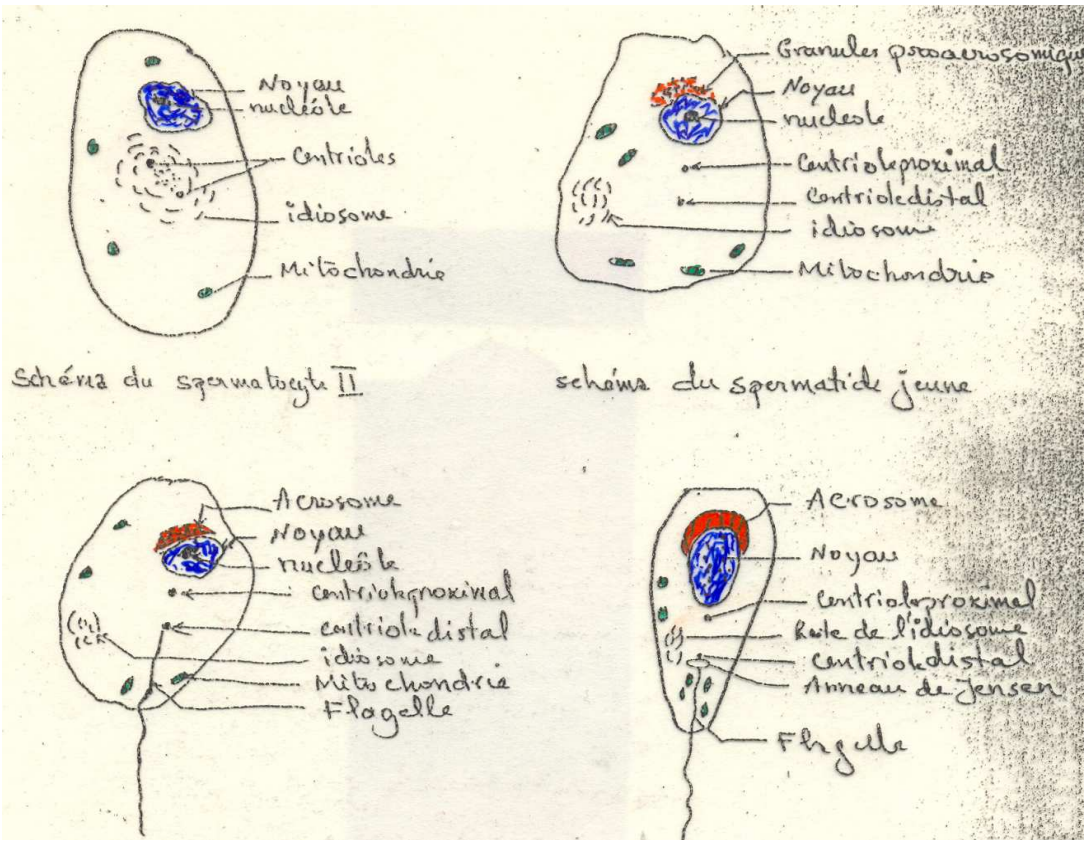
4. 3. Différents types de spermatozoïdes (voir schéma)

- 2 types morphologiques dans le règne animale : flagellé (le plus répondu) et celui sans flagelle (chez de nombreux invertébrés).


On considère le cas où 2n=4.
♂
Spermatogonie
♀ ovogonie
2n chromosomes
phase de Multiplication
Spermatocyte I
2n chromosomes
Ovocyte I
phase de Croissance
Réduction Chromatique
Spermatocyte II
n chromosomes
Globule polaire
ovocyte II
phase de Maturation
Spermatides
Globule polaire
Ovotide
Différenciation Spermiogénèse
Spermatozoïdes


DUREE
renouvellement des spermatogonies Ad
spermatogonie Ad
LIGNEE GERMINALE
2n Chromosomes
phase de multiplication
27 jours de Ap à SP I
1 spermatogonie Ap
spermatogonie B
spermatocyte I
2n Chromosomes
phase de croissance
23 jours SP I
croissance et meïose I
phase de mmaturation
1 jour de SP I à SP II
spermatocyte II meïose II
n Chromosomes
23 jours
spermatide
SPERMIOGENESE
Différenciation
corps résiduels
16 spermatozoïdes
n Chromosomes



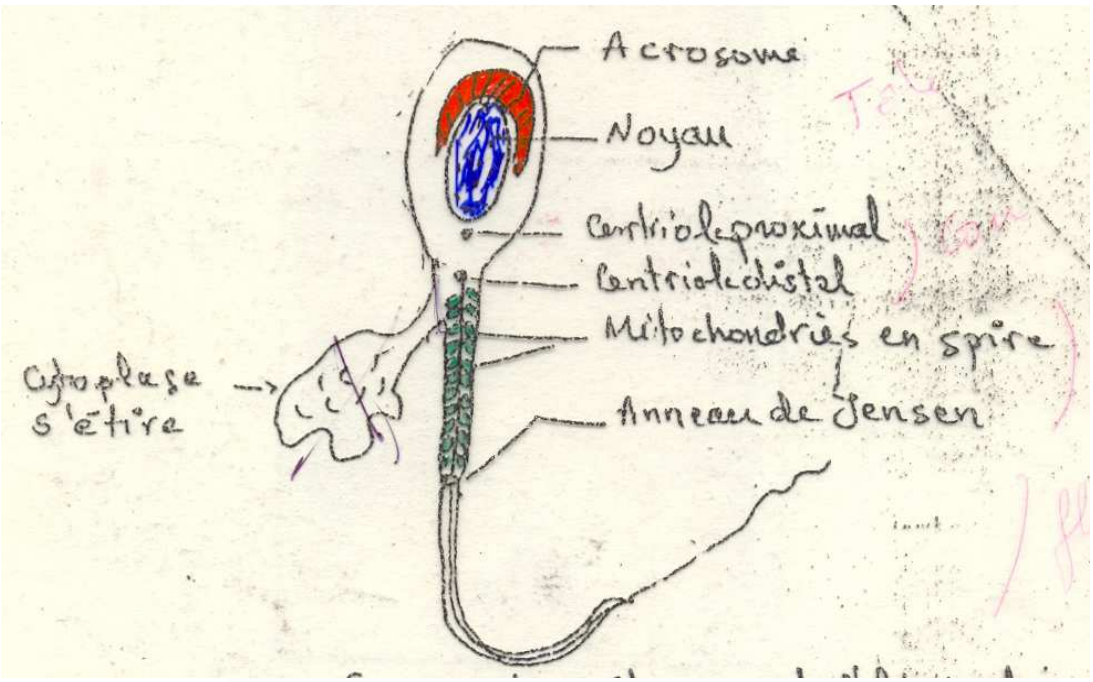


4. 4. <u>Biologie des spermatozoïdes</u>

4. 4. 1. <u>Motilité</u>: Le spermatozoïde acquiert son activité après son évacuation grâce aux sécrétions de l'épididyme mais aussi à celles des glandes annexes (prostate et vésicule

séminale) : motilité à raison de 2 mm/min.

4. 4. 2. <u>Durée de vie</u>: Variable selon les espèces (des mois chez les chauves souris et 4 à 5 jours chez l'Homme, une fois dans le tractus génital femelle).



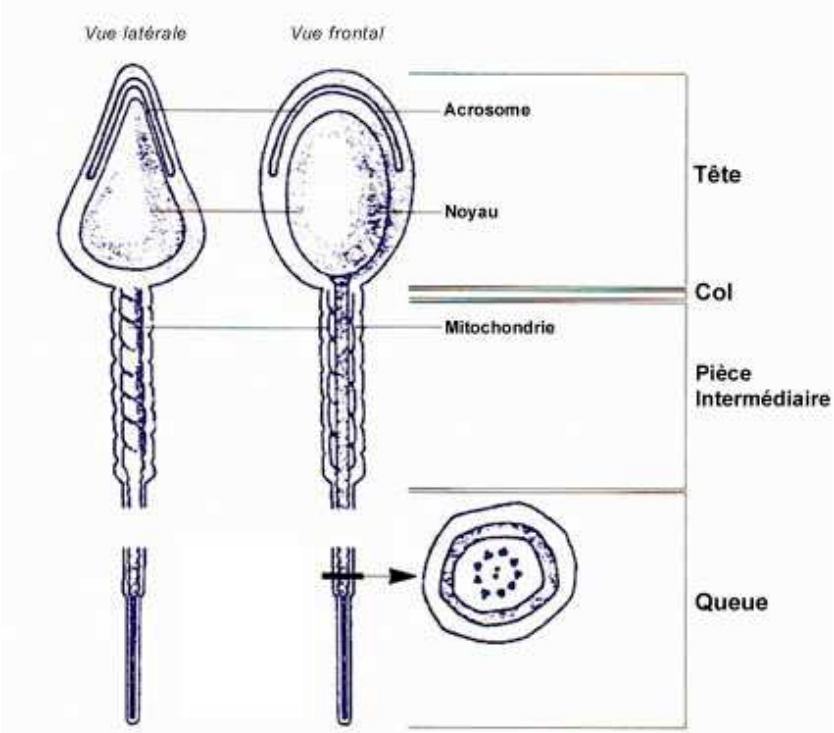


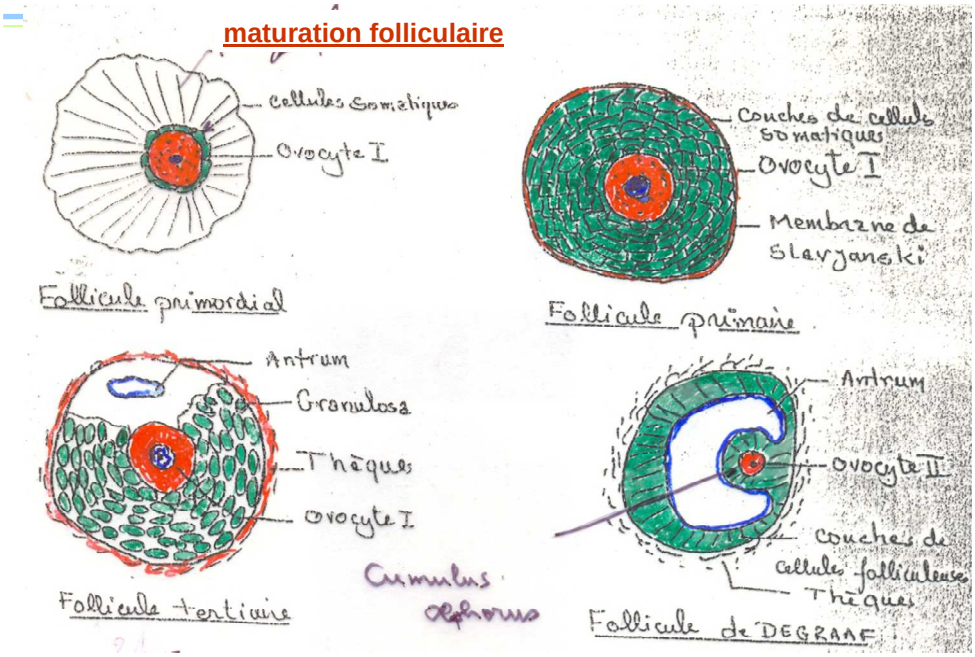
Schéma d'un spermatozoide

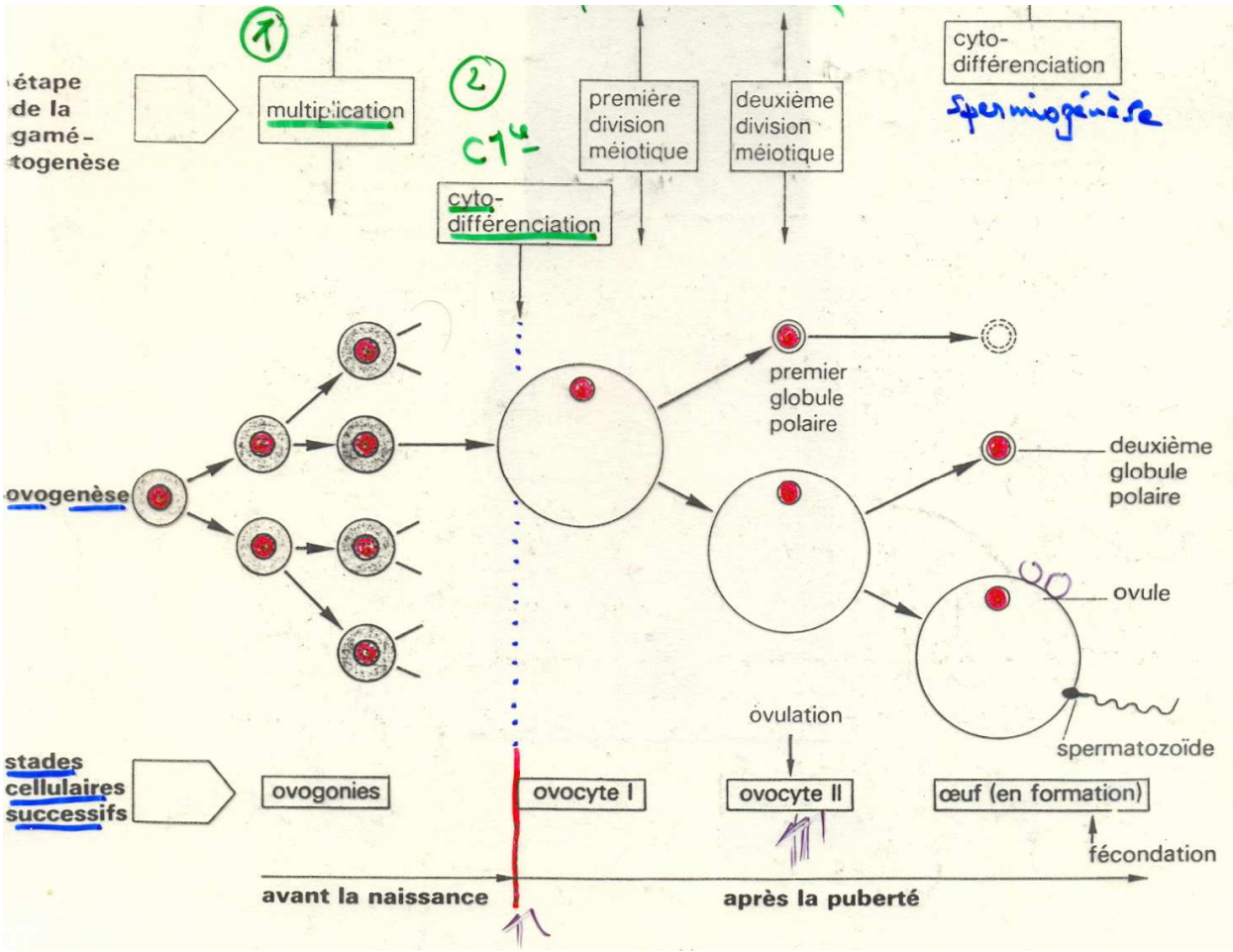
5. <u>Le gamète femelle</u>. Très volumineux avec cytoplasme très riche en ARN.

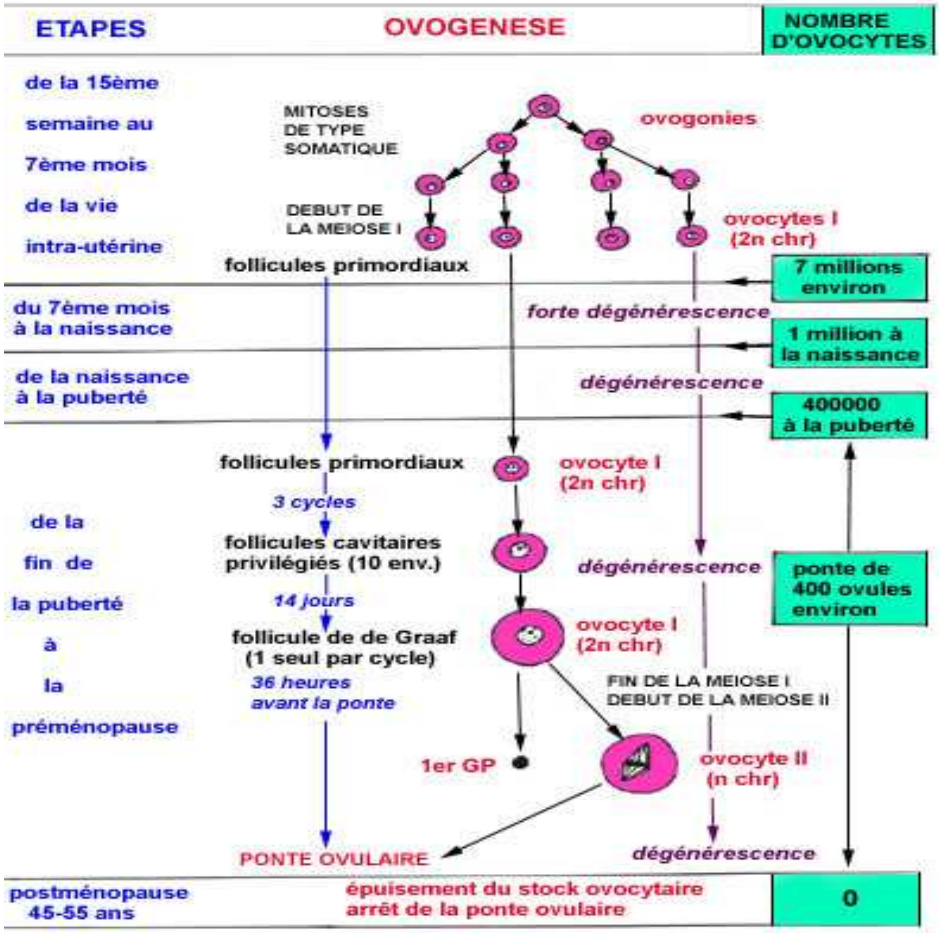
5. 1. <u>Évolution du gamète femelle</u> (cas de l'espèce Humaine, Fig. 35a)

- Après la 1ère division de la méiose, l'ovocyte II est émis par l'ovaire (<u>ponte ovulaire</u>) et est capté par la pavillon de l'oviducte. L'ovocyte II entame alors la seconde division mais reste bloqué en métaphase II: c'est l'activation par un spermatozoïde qui permet d'achever cette division méiotique.

- L'ovocyte I bloqué au stade diplotène s'entoure d'une première assise de C somatiques régulières = follicule primordial. À chaque cycle sexuel (puberté), un certain nombre de follicules primordiaux s'engagent dans une maturation folliculaire pour former le follicule primaire qui subira un certain nombre d'étapes pour aboutir au follicule mûr = Degraaf (Fig. 35a).







5. 2. <u>Principaux types d'oeufs</u> (Fig. 35b)

- Les ovules sont classés en 5 types selon la richesse en vitellus (réserves):

5. 2. 1. <u>Oeufs oligolécithes</u>: peu de vitellus sous forme de granulations dans le cytoplasme, globules polaires marquent le pôle supérieur (animal) et à l'opposé se trouve le pôle inférieur (végétatif, + dense en vitellus). On les trouve chez les Echinodermes (oursin marin) et les Amphioxus.

5. 2. 2. <u>Oeufs hétérolécithes</u>: Répartition hétérogène du vitellus, plus abondant sous forme de plaquettes condensées vers le pôle végétatif. Ces oeufs existent chez Amphibiens, Mollusques (pas les Céphalopodes) et Annélides.

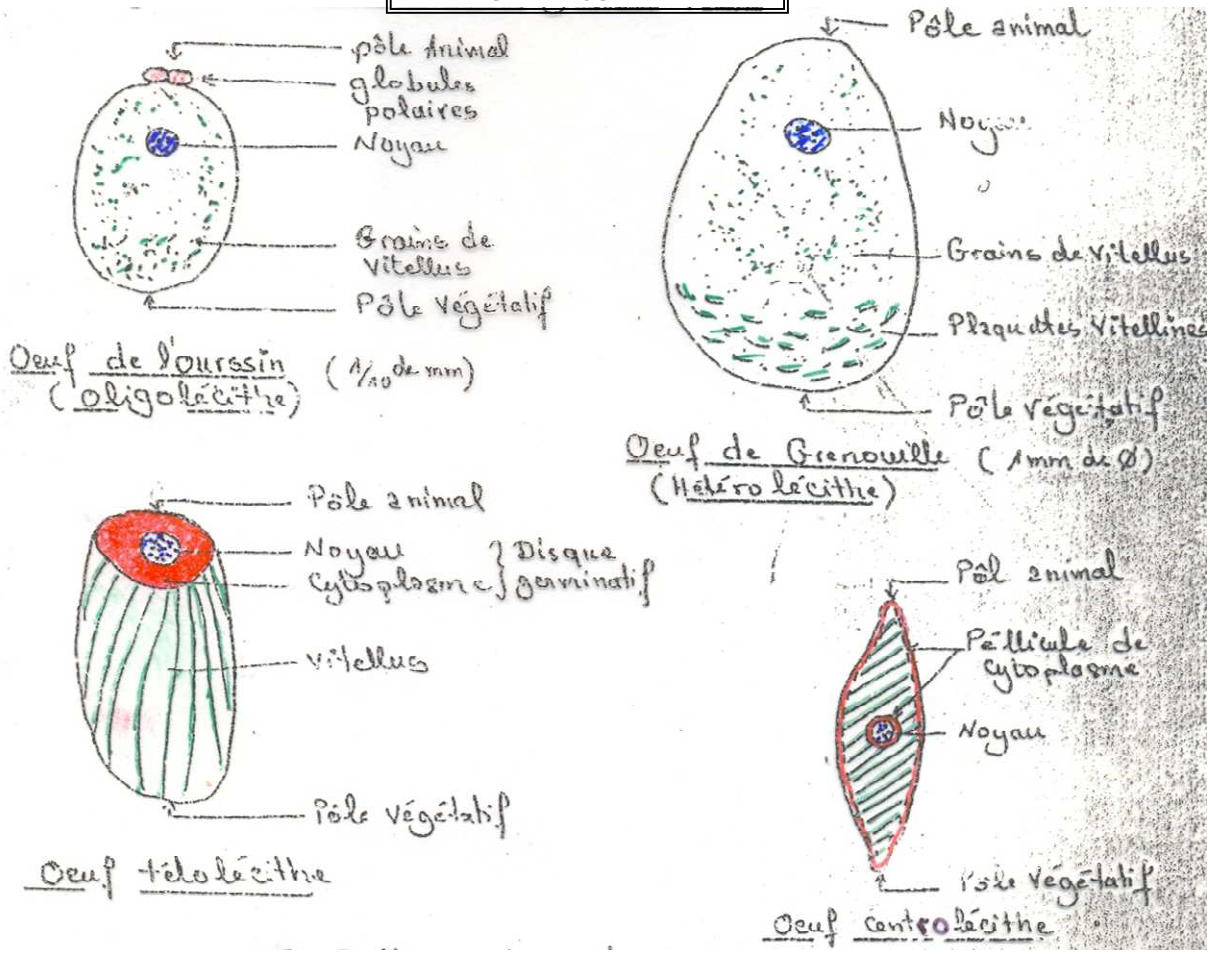
5. 2. 3. <u>Oeufs télolécithes</u>: Vitellus très abondant → cytoplasme rejeté avec le noyau vers le pôle animal = oeufs volumineux rencontrés chez les Céphalopodes, poissons, oiseaux, reptiles et certains Mammifères (Échidnés).

5. 2. 4. <u>Oeufs centrolécithes</u>: Vitellus central et le cytoplasme forment une pellicule périphérique et une sphère ventrale autour du noyau. Ces oeufs se trouvent chez les Arthropodes et surtout les crustacés et les insectes.

5. 2. 5. <u>Oeufs alécithes</u> = oeuf des Mammifères placentaires (perte de vitellus se produit secondairement au cours de l'évolution).

5. 3. <u>Maturation de l'oeuf</u> → achèvement de la méiose se traduisant par l'émission des 2 globules polaires : a lieu rarement dans l'ovaire et plus souvent en relation avec la fécondation.

Principaux types d'oeufs



II. LA FÉCONDATION

1. Définition → fusion de 2 gamètes (mâle et femelle) en un zygote, point de départ d'un nouvel individu. En général les gamètes sont issus de 2 individus différents (espèce gonochorique) par différence aux êtres hermaphrodites, chez qui les gamètes sont dans un même individu : La fécondation est toujours croisée et l'autofécondation n'a lieu que très rarement.

Oursin de mer libérant les gamètes

2. <u>Différents types de fécondation</u>. 2 types majeurs :

2. 1. <u>Fécondation externe</u>

- La plupart des invertébrés et des vertébrés rejettent leurs gamètes dans l'eau où a lieu la fécondation. Certains facteurs interviennent pour compenser les pertes dans ce cas : synchronisation des activités, densité de populations très élevée , nombre élevé de gamètes émis (10^8 d'oeufs/huître/année).

2. 1. <u>Fécondation interne</u>

- Spermatozoïdes directement déposés dans les voies génitales de la femelle pour rejoindre les ovules → <u>ovulation</u> ou <u>coït</u> à l'extérieur (coquille des Reptiles) ou à l'intérieur (Mammifères) de la femelle).

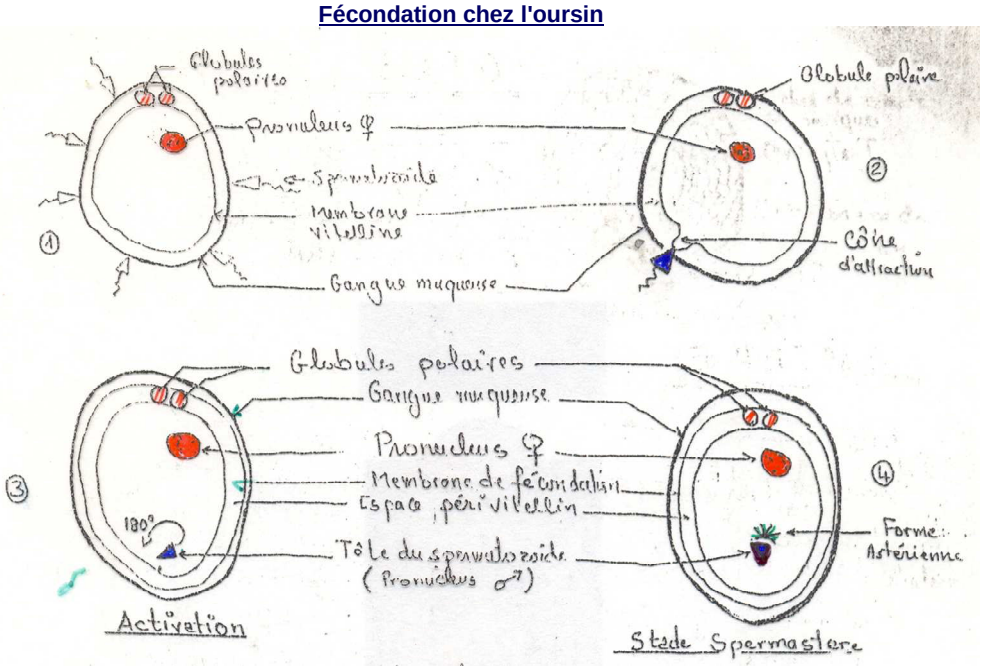
3. <u>Les mécanismes fondamentaux de la fécondation</u>. 2 aspects:

- **L'<u>activation</u>** → oeuf sort de son inertie physiologique (par des processus qui relancent son activité métabolique).
- **<u>L'amphimixie</u>** → fusion des 2 gamètes ou pronucléus mâle et femelle et un noyau de fécondation (2n) où coexistent les gènes parentaux.

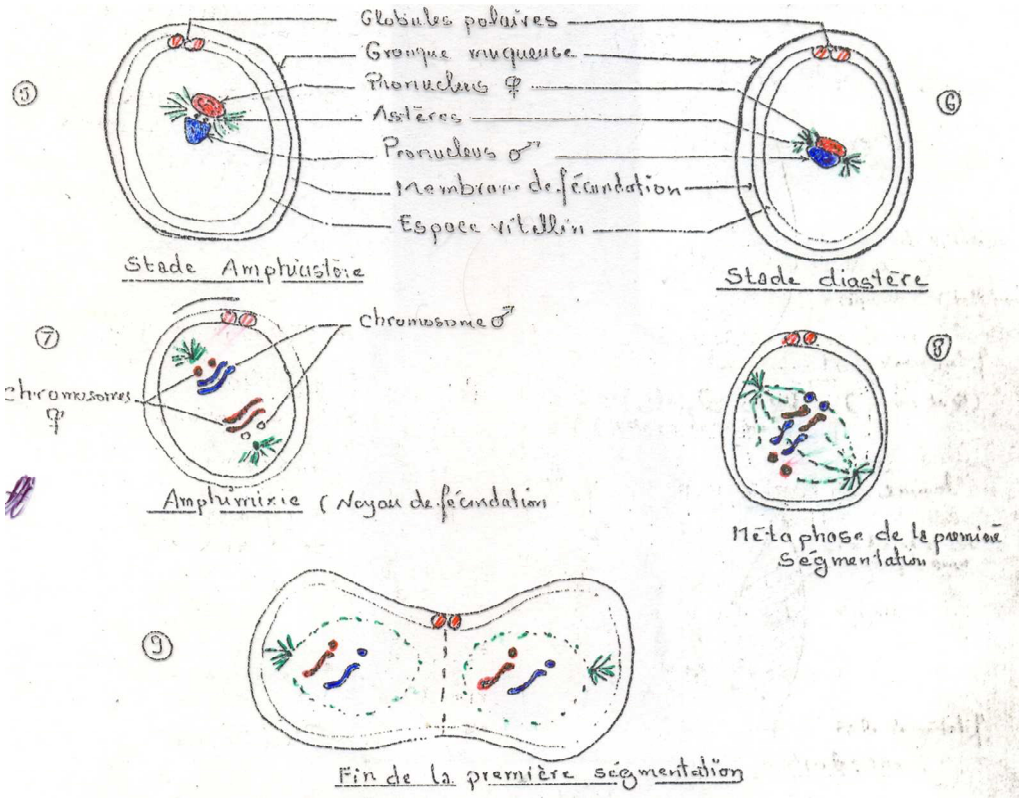
3. 1. <u>Fécondation chez l'oursin</u> (Figs. 36 à 38).

- Mots clefs: Gangue muqueuse; cône d'attraction; liquide périvitellin, stades spermastère, amphiastère, diastère (dicentrique); amphimixie (noyau de fécondation) et première mitose de segmentation.

<u>Fécondation chez l'oursin</u>



Fécondation chez l'oursin

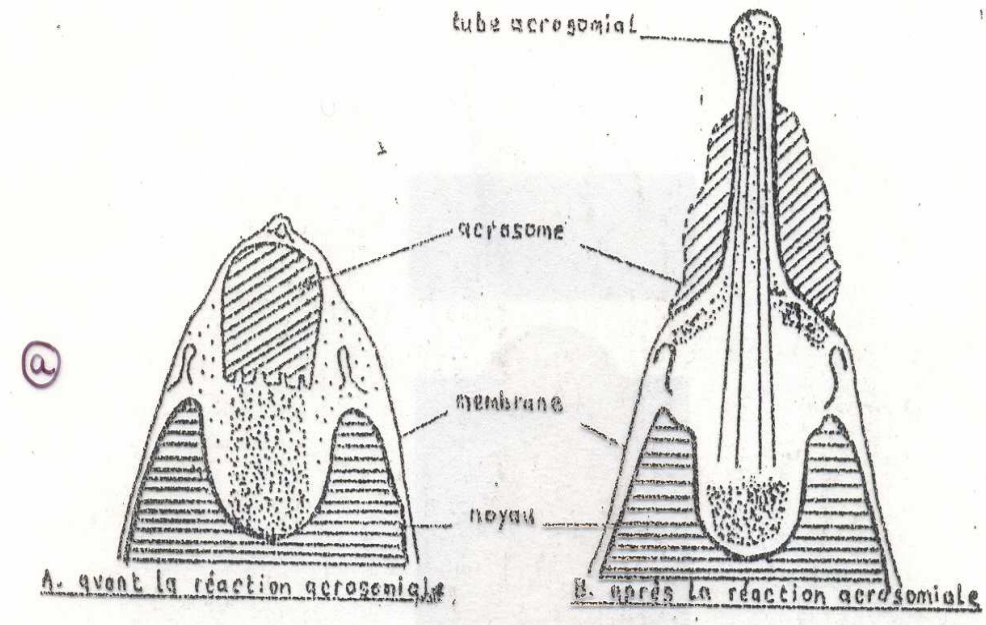


3. 2. Aspects cytologiques de la fécondation chez l'oursin

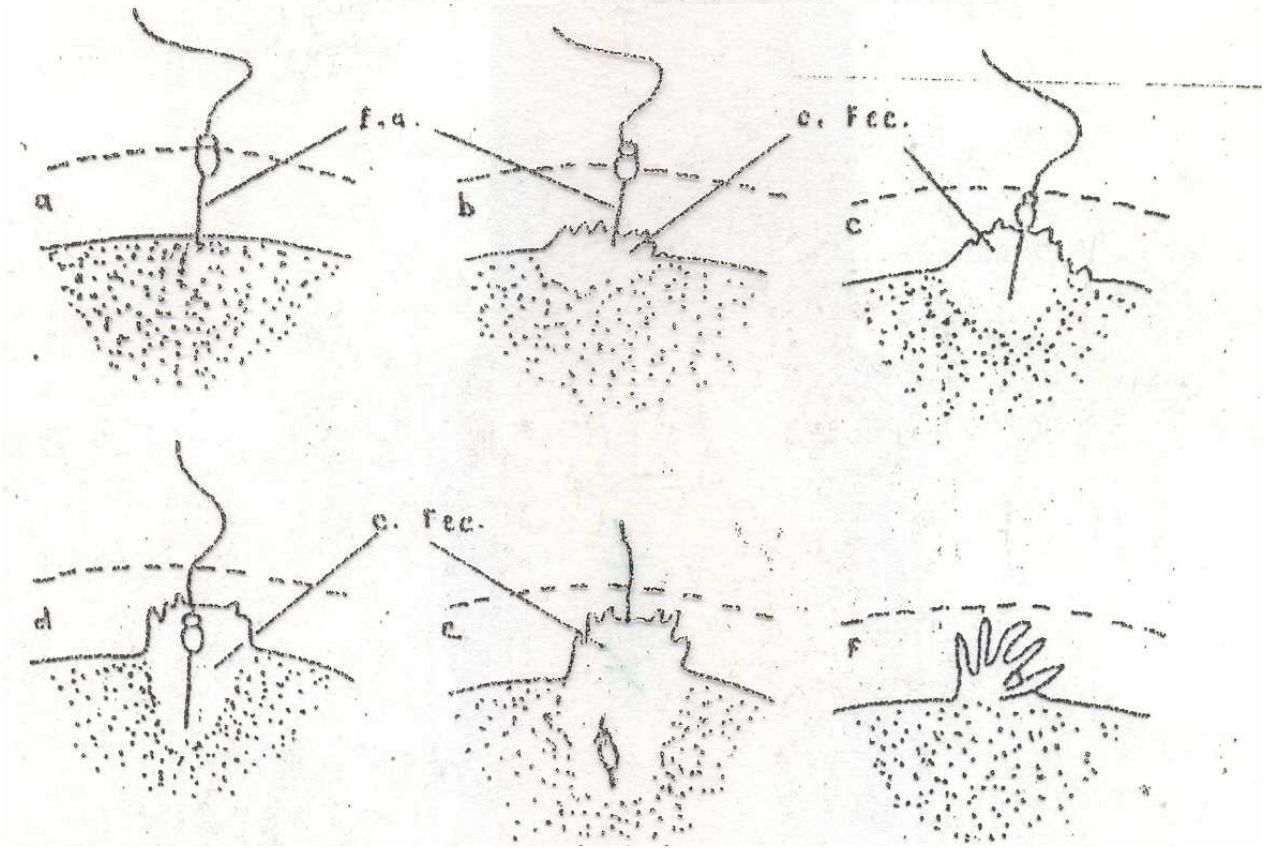
* Réaction du gamète mâle (Fig. 37a): Dans le cas de l'oursin, un filament apical issus de la tête spermatique se projette vers l'oeuf = réaction acrosomiale. Ce filament acrosomial disparaît une fois la gangue muqueuse traversée.

* Réaction du gamète femelle :

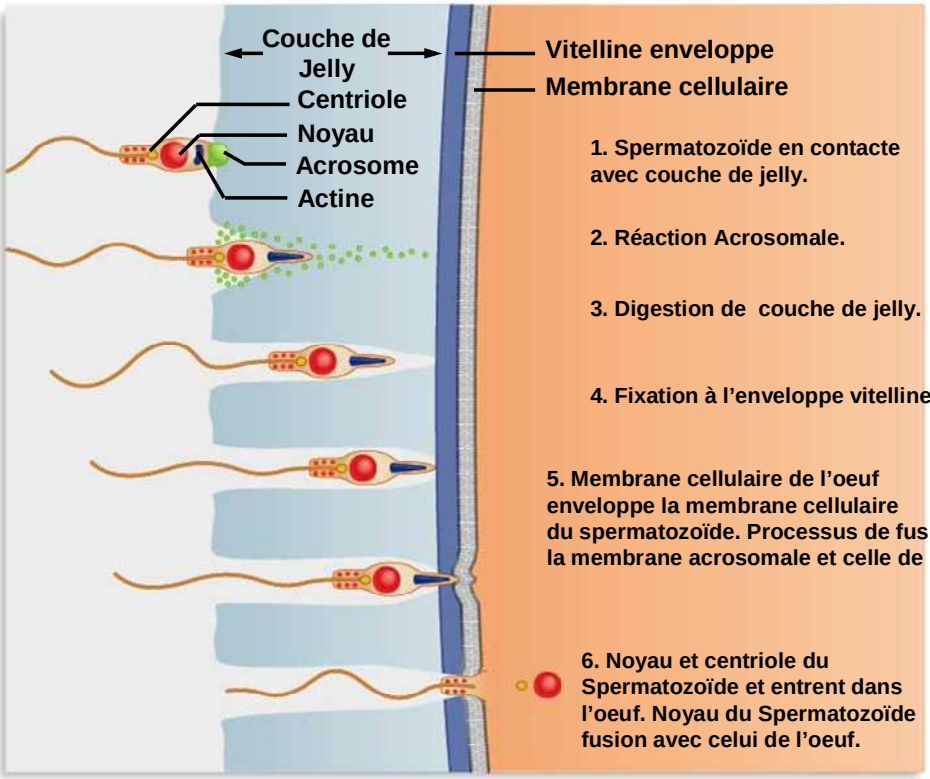
- Formation du cône d'attraction (de fécondation) par soulèvement de la membrane ovulaire au contact de la tête spermatique avec (Fig. 37b).
- Membrane de fécondation: Après fécondation, la couche corticale de l'ovule (plasmalemme) subit des remaniements physico-chimiques qui traduisant l'activation de l'oeuf et la formation de la membrane de fécondation (Fig. 38).
- Les phénomènes décrits chez l'oursin sont comparables chez d'autres espèces animales, mais la durée est différente (20 secondes chez l'oursin; 30 min chez les amphibiens).

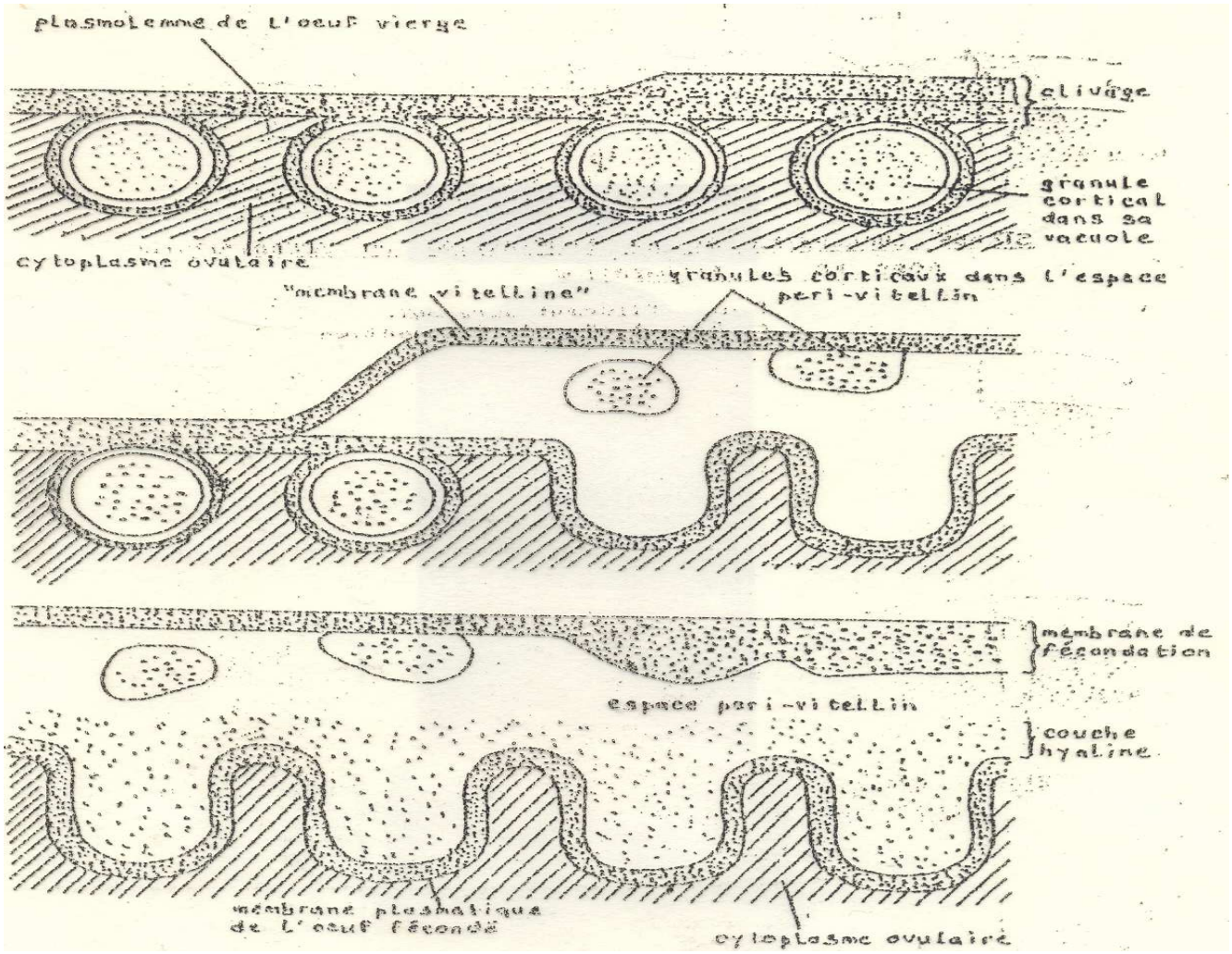


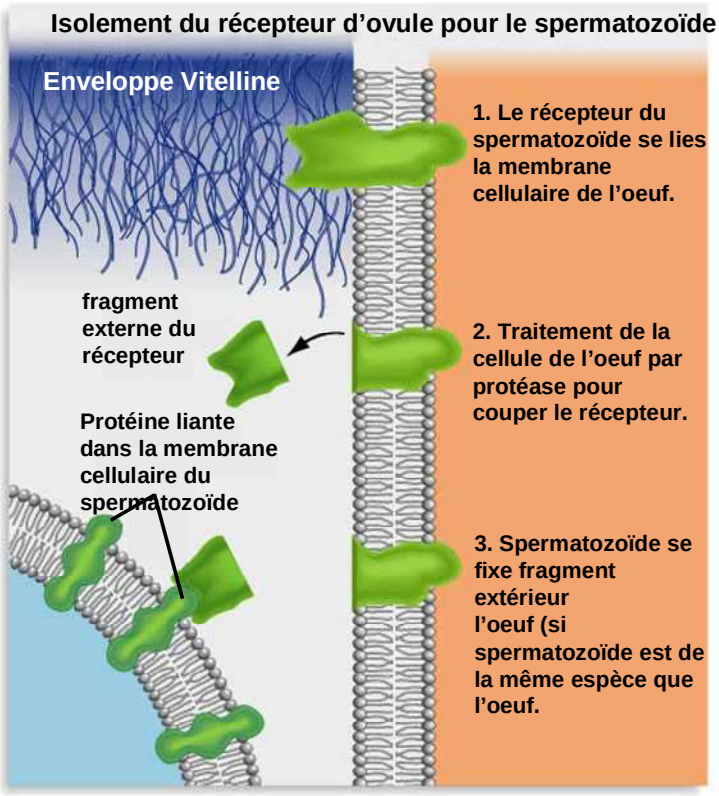
SCHEMA DE L'ACROSOME D'UN SPERMATOZOIDE D'OURSIN



Aspects cytologiques de la fécondation


Couche de Jelly
Centriole
Noyau
Acrosome
Actine
Vitelline enveloppe
Membrane cellulaire
1. Spermatozoïde en contacte avec couche de jelly.
2. Réaction Acrosomale.
3. Digestion de couche de jelly.
4. Fixation à l'enveloppe vitelline.
5. Membrane cellulaire de l'oeuf enveloppe la membrane cellulaire du spermatozoïde. Processus de fusion de la membrane acrosomale et celle de l'oeuf.
6. Noyau et centriole du Spermatozoïde et entrent dans l'oeuf. Noyau du Spermatozoïde fusion avec celui de l'oeuf.


plasmolemme de l'oeuf vierge
clivage
granule cortical dans sa vacuole
cytoplasme ovulaire
"membrane vitelline"
granules corticaux dans l'espace peri-vitellin
membrane de fécondation
espace peri-vitellin
couche hyaline
membrane plasmatique de l'oeuf fécondé
cytoplasme ovulaire



3. 3. Fécondation chez l'Homme

- Exige une préparation préalable de la femelle pour la réception du gamète mâle: bon fonctionnement du système hormonal.
- Le gamète mâle libéré dans les voies génitales femelles retrouve sa mobilité grâce à la glaire cervicale (hydrogel alcalin sécrété qui neutralise l'acidité des sécretions vaginales spermatozoïde apte à la fécondation) et atteint la trompe de fallope pour rencontrer l'ovocyte II pour la fécondation.

3. 3. 1. Conditions de la fécondation chez l'Homme

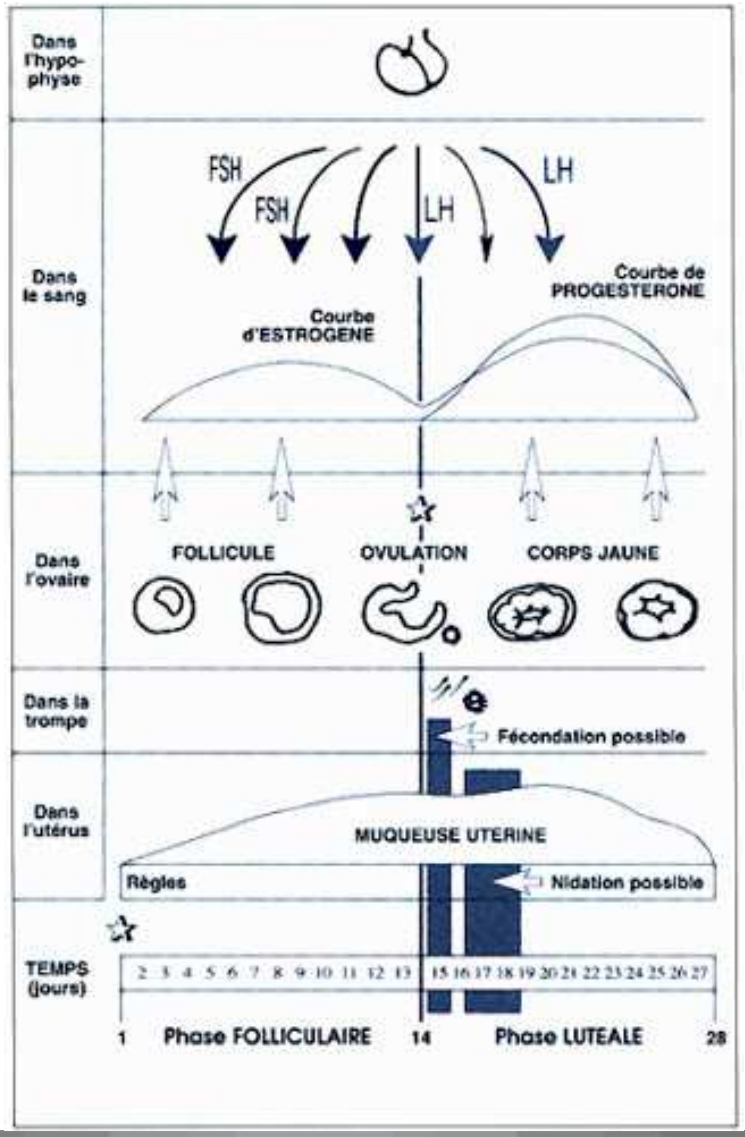
* Gamète mâle:

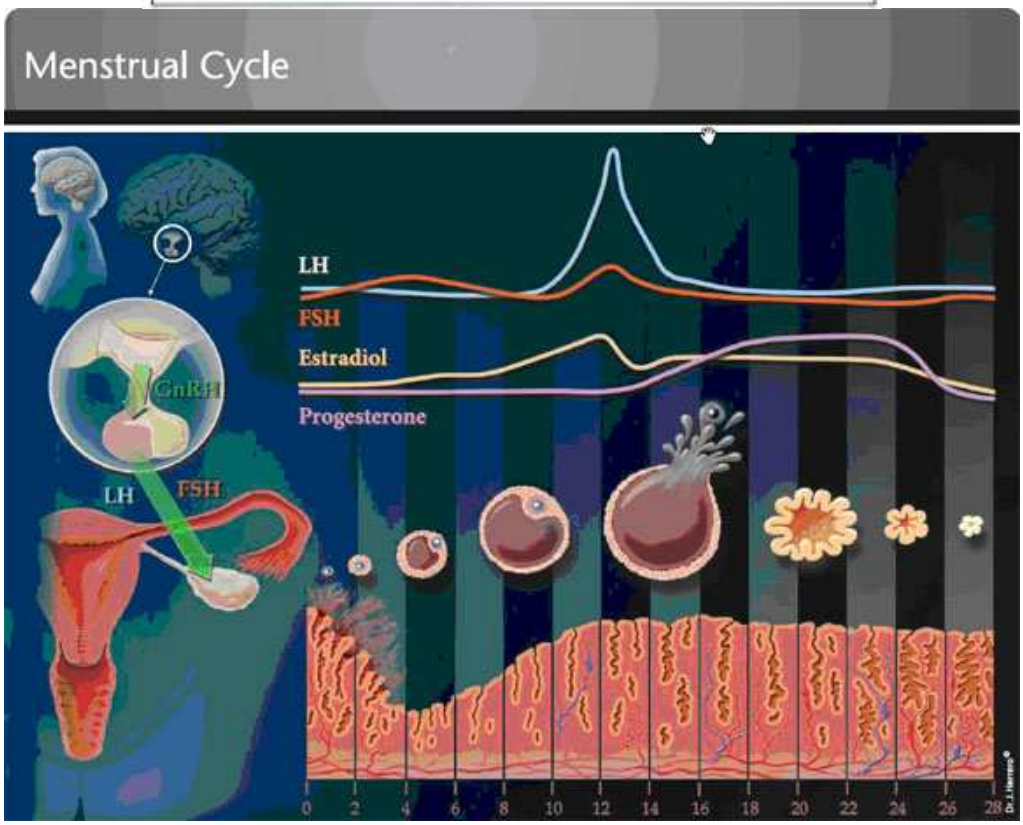
- sperme fécond normal = en moyenne 100 millions de spermatozoïdes/ml (70 à 80% sont mobiles et 25% peuvent être anormaux); le spermatozoïde conserve son pouvoir fécondant pour 48 h (4 à 5 j dans certains conditions expérimentales).
- Azoospermie: problèmes liés à la libération de spermatozoïdes (origine hormonale ou physique).

* gamète femelle:

- L'ovocyte humain doit atteindre le stade métaphase II (36 à 42 h après ovulation) pour être fécondable, cette méiose (qui débute 16 h avant l'ovulation) nécessite l'action des hormones LH et FSH et se bloque en métaphase II jusqu'à l'accueil du spermatozoïde.

Cycle menstruel

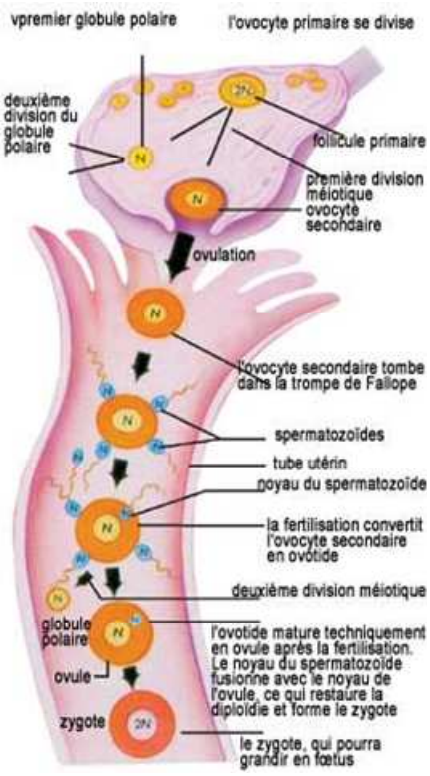


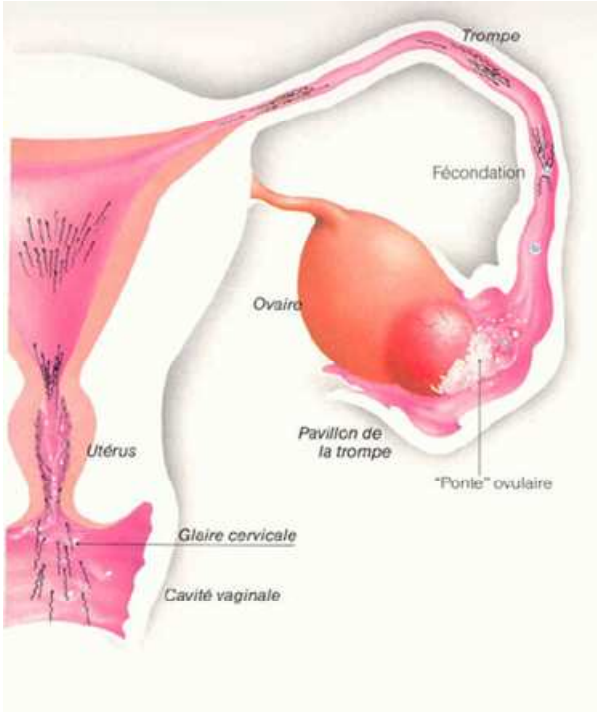


3. 3. 2. <u>Déroulement de la fécondation chez l'Homme</u>

- Fécondation débute par la rupture de la membrane plasmique du spermatozoïde (zone sus-acrosomiale) → libération d'enzymes acrosomiales facilitant le passage actif de plusieurs spermatozoïdes (qui reconnaissent des glycoprotéines de la gaine de l'ovocyte pas de fécondation interspécifique).
- Plusieurs spermatozoïdes peuvent traverser cette gaine mais un seul va fusionner sa membrane avec celle de l'ovocyte II, puis la structure du cortex ovulaire subit des modifications (→ pas d'entrée d'autres gamètes) puis se poursuit la fécondation comme chez l'oursin avec certaines différences structurales et physiologiques.

Étapes de la fécondation naturelle





5. <u>Les anomalies de la fécondation</u>

5. 1. <u>Polyspermie</u>

- La monospermie est la règle générale cependant certains oeufs riches en vitellus (insectes, sauropsidés) présentent une polyspermie:!un seul gamète sera fécondant, les autres dégénèrent dans le cytoplasme ovulaire.
- La monospermie est due à la membrane de fécondation (barrière).
- Chez les Mammifères, il arrive que 2 spermatozoïdes pénètrent un ovocyte II (dispermie; 2% des cas) sans perturber la fécondation (un dégénère).

5. 2. <u>Le vieillissement des gamètes</u>. À lieu chez les Mammifères si l'accouplement se produit loin de la période de ponte ovulaire(→ pas de fécondation: vieillissement du spermatozoïde ou dégénérescence de l'ovule).

5. 3. <u>Anomalies zygotiques</u>

5. 3. 1. <u>Les chimères</u>. Organismes composés de variétés cellulaires provenant d'oeufs différents (union de plus de 2 zygotes).

5. 3. 2. <u>Gynogenèse</u>. L'individu se développe à partir d'un pronucléus femelle après pénétration du spermatozoïde sans amphimixie.

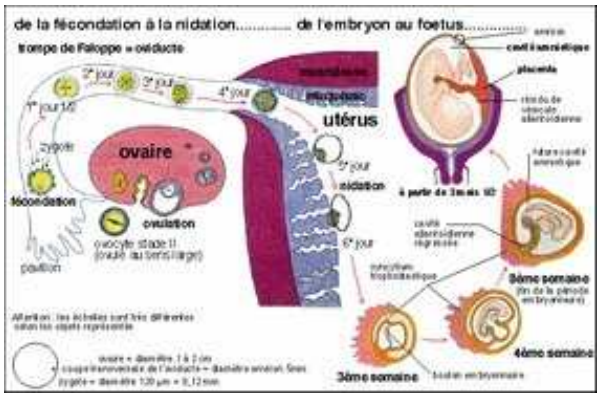
5. 3. 3. <u>Parthénogenèse</u>. L'individu se développe à partir d'un gamète femelle non fécondé = <u>parthénogénétique</u>.

5. 3. 4. <u>Gynandromorphisme</u>. Existence chez un même individu de territoires de structures mâle et femelle: Cellules issues d'un accident après fécondation mitose donnant un individu en mosaïque = <u>gynandromorphe</u>.

<u>III- Développement embryonnaire des animaux</u>

L'Embryologie est l'étude du développement de l'œuf, depuis la fécondation jusqu'à la forme adulte dans laquelle les organes différenciés sont mis en place.

A la suite de la fécondation, **un œuf (zygote**) est obtenu dont le développement (**embryogenèse)** aboutit à la formation d'un nouvel individu. Ce développement comporte des étapes caractéristiques qui se retrouvent chez tous les métazoaires, et qui sont: **segmentation, gastrulation, neurulation et l'organogenèse**.



Développement du future bébé

0 jour

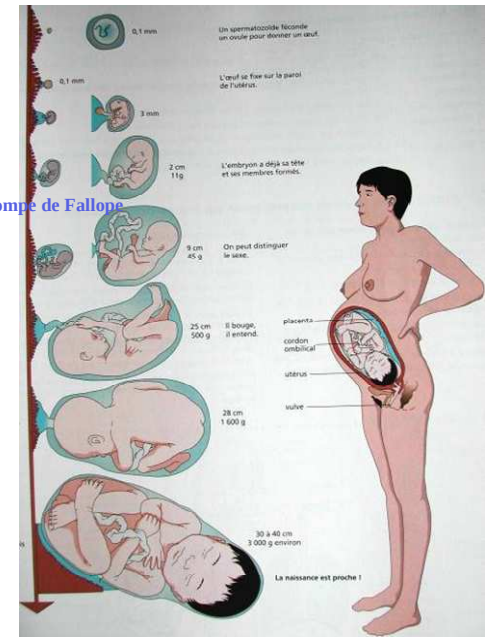
2 mois = foetus

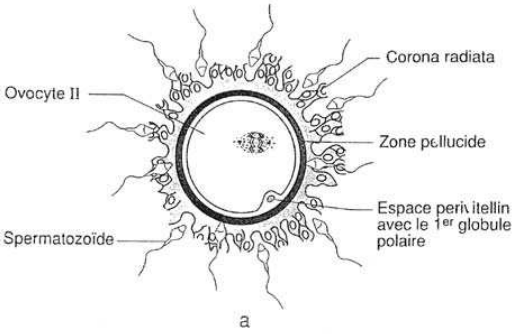
ampoule de trompe de Fallope

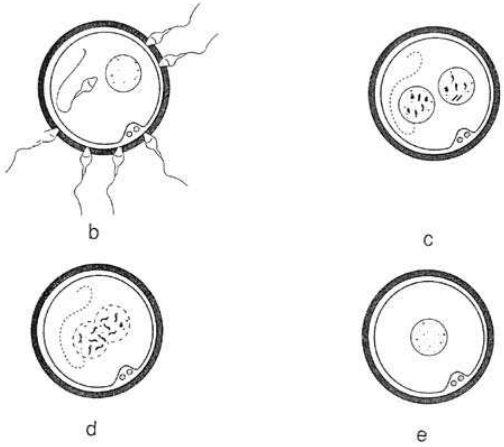
3 mois

7 mois

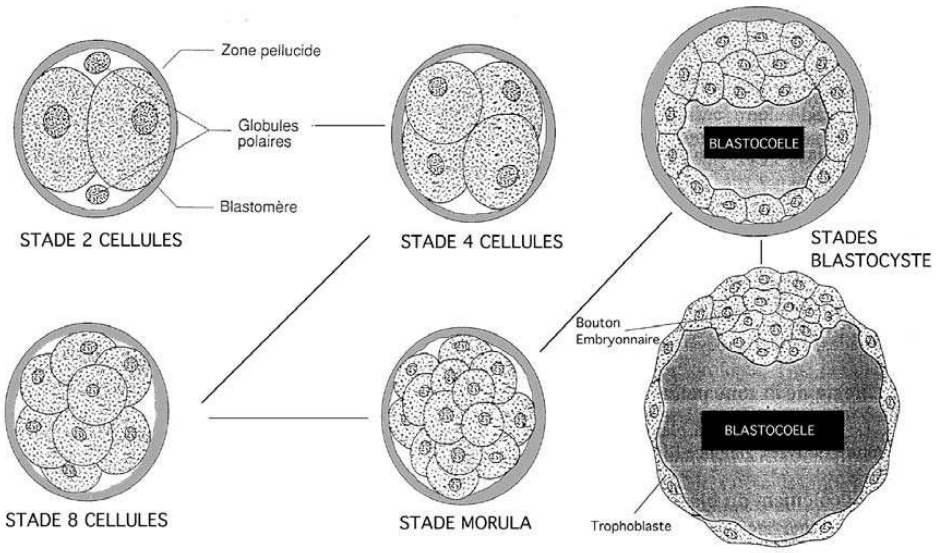
9 mois

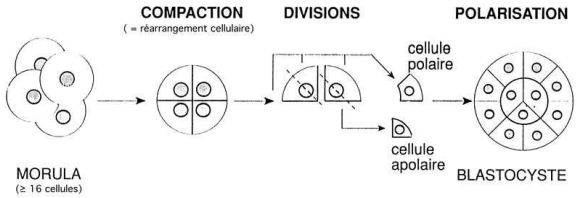




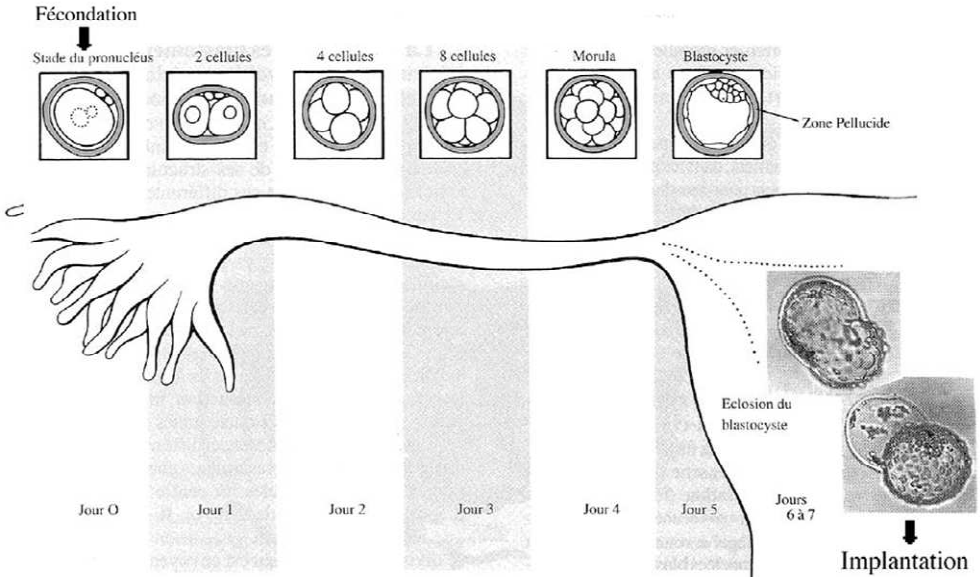


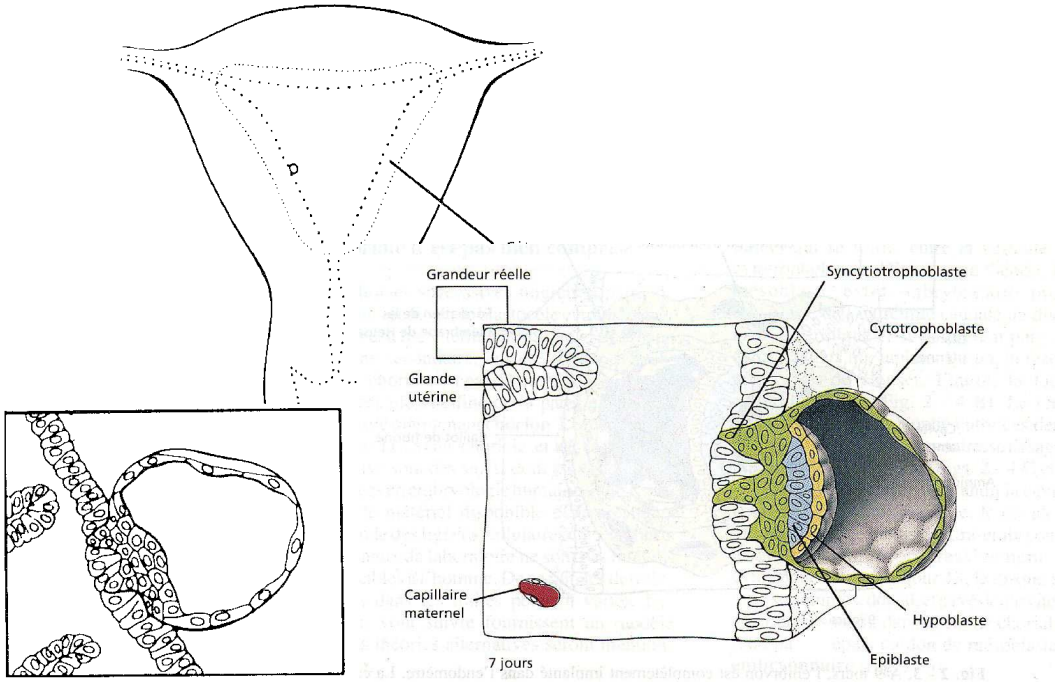
Fusion des gamètes (d'après K.L. Moore, 1988)
a. Ovocyte II en métaphase de la méiose II; *b.* noter la disparition de la corona radiata, la pénétration d'un spermatozoïde, l'achèvement de la méiose II et la formation du 2e globule polaire; *c.* formation des pronoyaux; *d.* fusion des pronoyaux; *e.* le zygote.



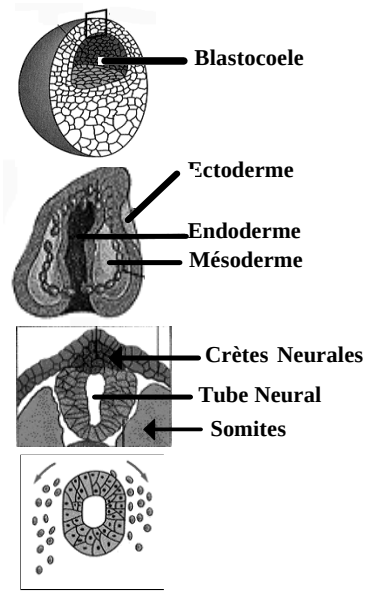


CLIVAGE (Segmentation) du zygote
et mécanismes associés





Les Premières Etapes du Développement



I. Première Etape: La Blastula

↓

II. Deuxième Etape: La Gastrulation

↓

III. Troisième Etape: La Neurulation

↓

IV. Quatrième Etape: Mise en Place des Somites

↓

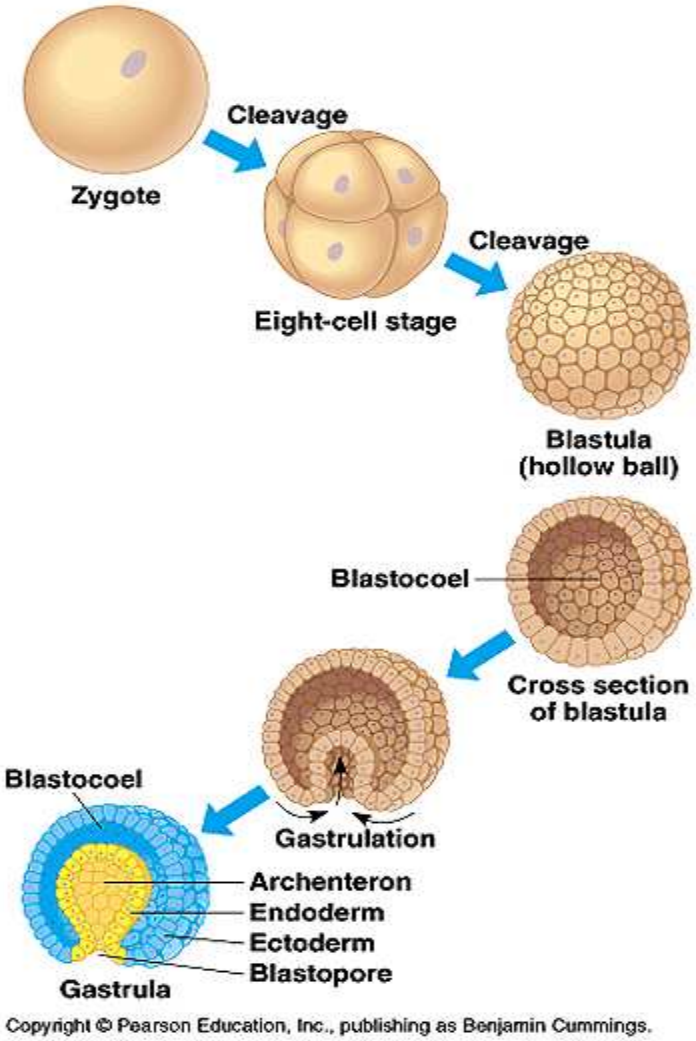
V. "Cinquième" Etape: Migration Cellulaire

La segmentation:

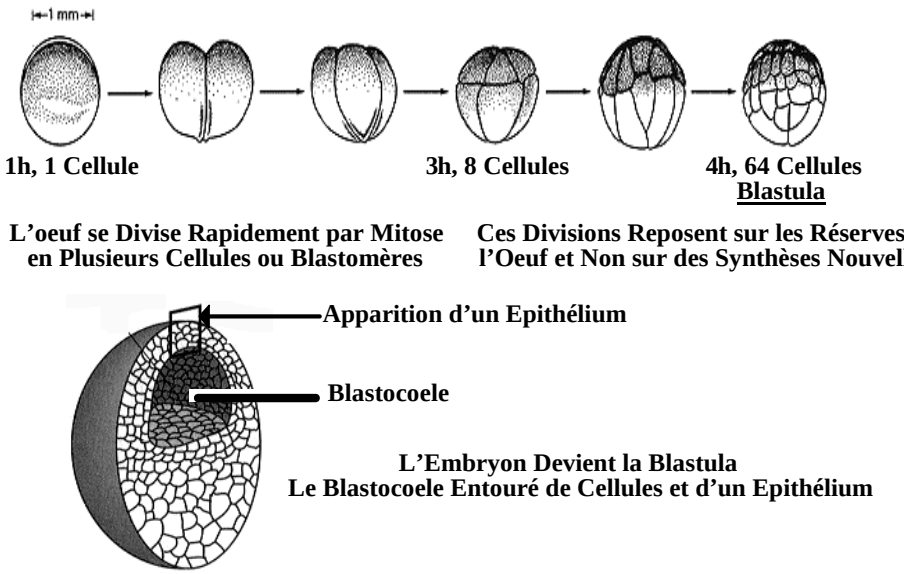
La segmentation est le passage de l'état unicellulaire à l'état pluricellulaire à la suite de plusieurs mitoses successives.

La division de l'œuf donne des cellules filles ou **blastomères**. Pendant la segmentation, le volume de l'œuf ne change pratiquement pas.

Mais après un certain nombre de divisions, l'œuf prend l'aspect d'une **petite Mûre ou Morula**, puis une cavité centrale se creuse = **le blastocoele:** dès lors **la morula** devient **une blastula**.



La Première Etape: La Blastula



2- La gastrulation:

C'est l'étape du développement embryonnaire au cours de laquelle les feuillets embryonnaires sont mis en place grâce aux mouvements morphogénétiques.

-Un feuillet externe ou ectoblaste (qui donnera l'ectoderme)

-Un feuillet interne ou endoblaste (qui donnera l'endoderme)

-Un feuillet intermédiaire s'individualise entre les deux premiers chez les métazoaires triploblastiques, c'est le mésoblaste (qui donnera le mésoderme).

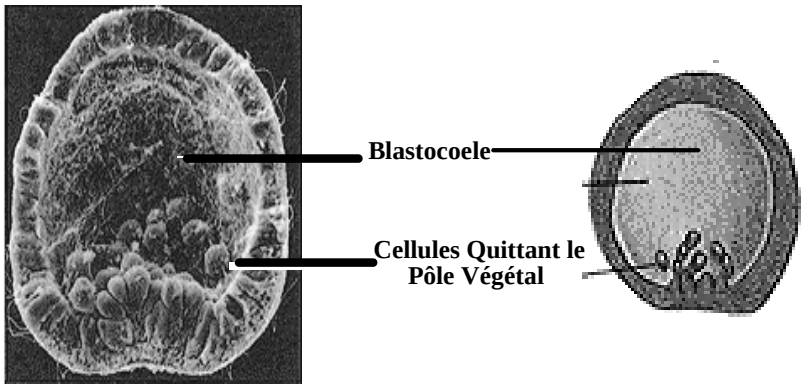
Pendant **la gastrulation**, **le blastoceole** régresse et une nouvelle cavité se forme; **l'archentéron** (ou futur intestin) qui communique avec l'extérieur par un orifice appelé **blastopore.**

La Deuxième Etape: La Gastrulation

Oursin

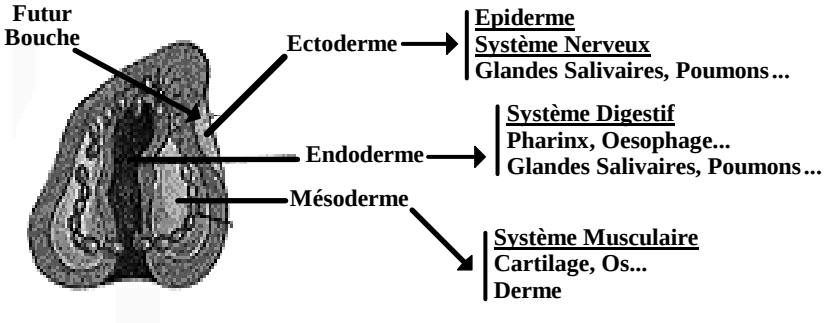
Blastula

L'Etape de la Gastrulation Commence par la Migration de Cellules Quittant le Pôle Végé



La Deuxième Etape: La Gastrulation

Développement des Feuillets Embryonnaires



Les Futurs Tissus de l'Organisme Dérivent des Feuillets Embryonnaires

La Bouche se Développe où l'Ectoderme est en Contact Direct avec l'Endoderme

- ***3- Eléménts d'organogenèse:***

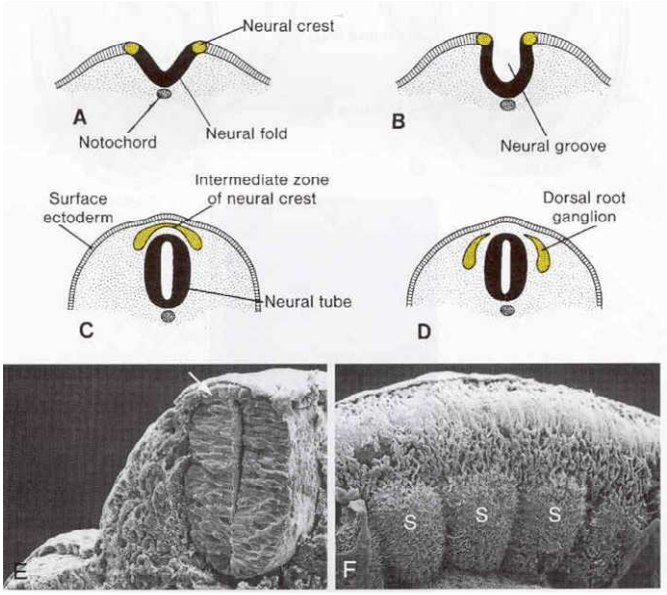
L'organogenèse consiste en la différenciation des organes à partir des 3 (ou 2) feuillets cellulaires mis en place au cours de la gastrulation.

a)*Evolution de l'ectoblaste: Neurulation.*

En même temps que l'embryon s'allonge dans la direction antéropostérieure, apparition de la **plaque neurale**: subdivise **l'ectoblaste** en 2 parties: le **neuroblaste et l'épiblaste**.

La plaque neurale est limitée latéralement par 2 bords épais, les **bourrelets médullaires**, vont fusionner dorsalement formant un **tube neural**. La soudure commence par la région moyenne du tube et progresse

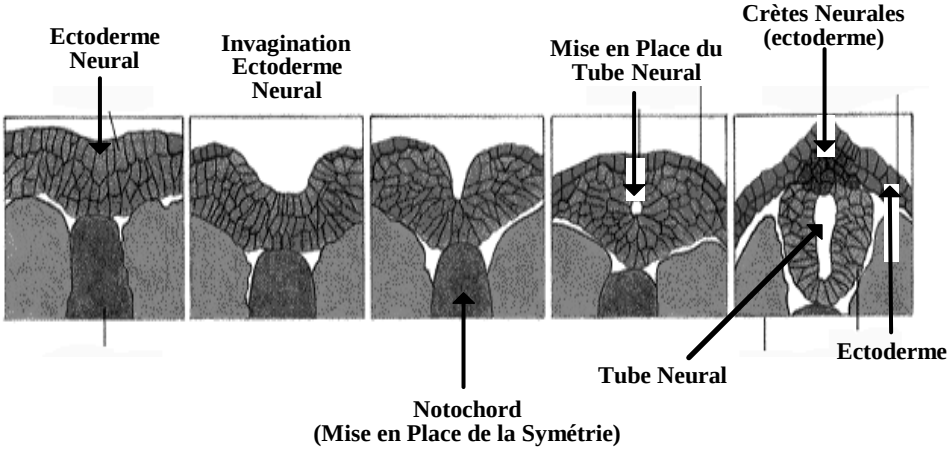
ensuite vers l'avant et vers l'arrière. Dans sa partie postérieure, **le tube neural** communique avec **l'archentéron** par l'intermédiaire du **canal neurentérique**.



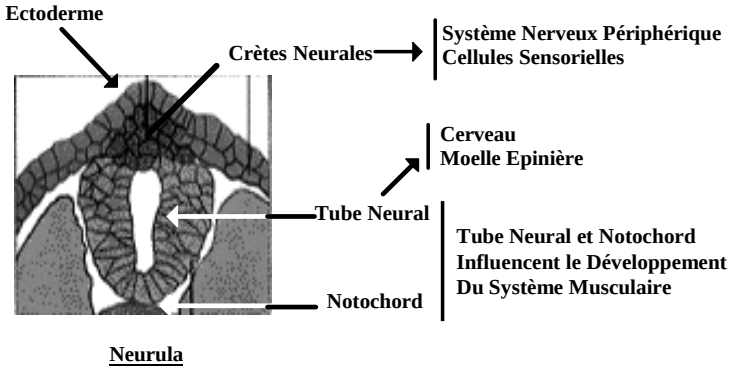
Neurulation: formation de la plaque, puis de la gouttière neurales, et enfin du tube neural. En parallèle de la formation du tube neural, les cellules des crêtes neurales entament leur migration. S: somites.

La Neurulation

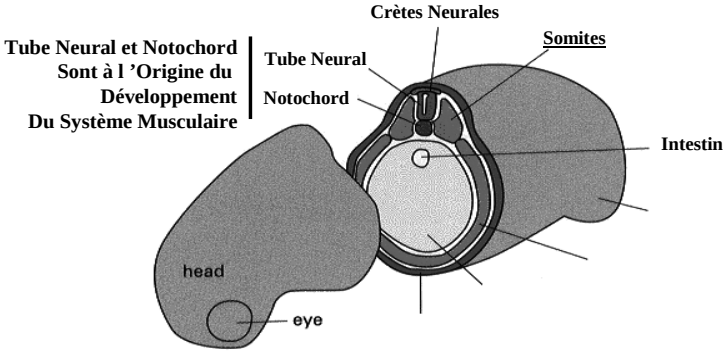
Le Système Nerveux se met en Place à Partir de l'Ectoderme au cours de la <u>Neurulation</u>

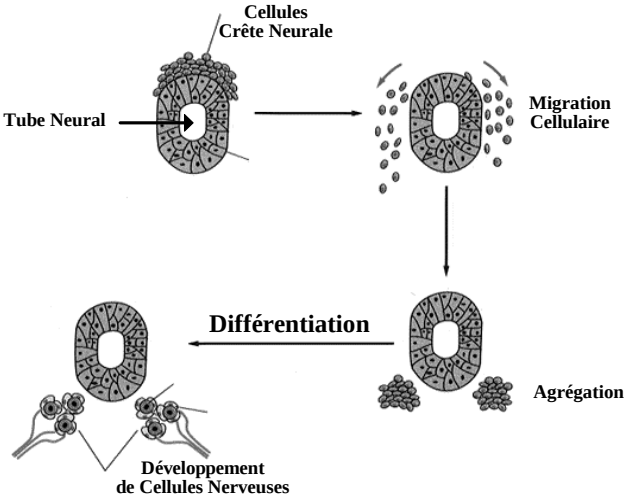


La Neurulation



L'Embryon Après La Fermeture du Tube Neural





L'ensemble du neuroblaste s'enfonce, si bien qu'à la fin de **la neurulation**, **l'épiblaste** retrouve sa continuité au dessus du **tube neural**.

Le tube neural se renfle en une **vésicule cérébrale** qui donnera **le cerveau**, alors que le prolongement vers l'arrière fournira **la moelle épinière**.

L'épiblaste quant à lui, fournit **l'épiderme** qui recouvre l'ensemble du corps. Il présente dans la région céphalique des épaississements ou **placodes sensorielles** qui finiront par se détacher et migrer en profondeur pour évoluer ensuite en **vésicules olfactives et optiques, en cristallins et en antéhypophyse**

2) ***Evolution du mésoblaste:***

Tout d'abord il se différencie dorsalement dans l'axe antéropostérieur une tige rigide: **la corde**, qui s'isole dans une position parallèle au tube nerveux, en dessous de celui-ci.

Le **mésoderme latéral** droit et gauche s'épaissit en deux alignements symétriques d'éléments réguliers: **les somites**. Chaque **somite** présente 3 parties :

le myotome: la plus grande partie du somite fournira la musculature du tronc et des membres (muscles striés). Ils gardent leur métamérisation et finissent par s'isoler;

Le sclérotome: constitué à partir d'un bourgeonnement du côté interne du **myotome**. Il fournira des éléments cellulaires qui se disposent en manchon autour du tube nerveux et de la corde, constituant une **ébauche de la colonne vertébrale**.

Le dermatome: situé sur le côté externe de chaque **myotome**. Il donnera le tissu conjonctif sous-cutané.

Sous chaque somite, la pièce intermédiaire est un étranglement entre le mésoblaste dorsal et le mésoblaste ventral. Elle est à l'origine de l'appareil uro-génital.

De chaque côté du tube digestif, les lames latérales se divisent en deux feuillets:

-Un feuillet externe: la **somatopleure** qui va s'appliquer contre la paroi du corps et donner naissance à la musculature des membres et du péricarde.

-Un feuillet interne: la **splanchnopleure** qui est à l'origine des muscles lisses, du myocarde, de l'endocarde et des éléments sanguins.

Les lames latérales vont à la rencontre l'une de l'autre sous la corde pour constituer le **mésentère dorsal**, qui prend le tube digestif dans la cavité générale.

3)Évolution de l'endoblaste:

-le tube digestif et ses glandes annexes, en particulier le foie et le pancréas.

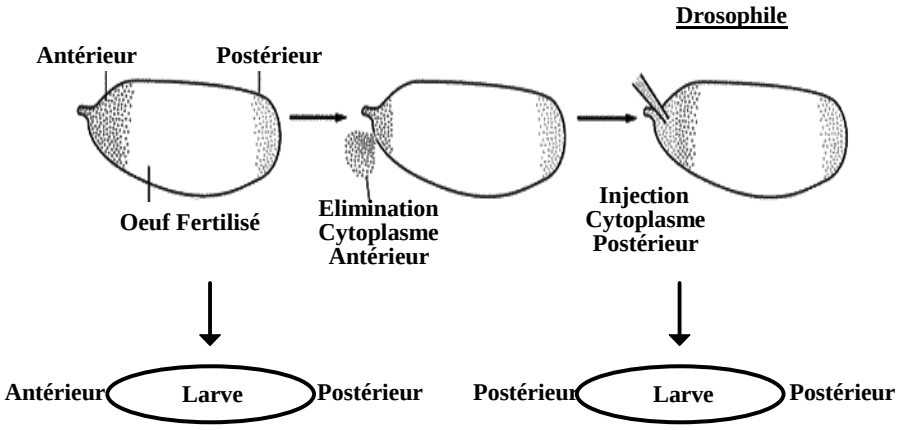
-les constituants de l'appareil respiratoire: un bourgeon médio ventral en arrière du pharynx constitue l'ébauche de la trachée, son extrémité donnera le tissu pulmonaire.

-Des poches pharyngiennes en position latérale donneront les branchies,

-Au niveau du **stomodeum**, le tube digestif s'ouvrira par la bouche. L'épiderme est directement en contact avec l'endoblaste digestif (sans interposition du mésoderme).

-A son extrémité postérieure, à l'endroit du **blastopore**, l'épiderme marque une dépression: **le protodéum**. C'est à son niveau, après l'ouverture du canal **neurentérique**, que s'ouvrira **le cloaque** qui est un orifice commun au tube digestif et aux voies uro-génitales.

Mise en Evidence d'un Plan de Développement Déterminé



La Polarisation de l'Embryon est dictée par le Cytoplasme Antérieur et Postérieur de l'Oe

Il Existe un Gradient d 'ARNm Maternels